



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (พฤกษศาสตร์)

ปริญญา

พฤกษศาสตร์

พฤกษศาสตร์

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง พฤกษเคมีและศักยภาพของกะเม็ง (*Eclipta alba* (L.) Hassk.) ในการข้อมผมขาว

Phytochemistry and Gray Hair Staining Potential of *Eclipta alba* (L.) Hassk.

นามผู้วิจัย นางสาวพจมาน พิศเพียงจันทร์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์สรัญญา วัชรโรทัย, Dr.rer.nat.)

กรรมการ

(อาจารย์อุไรวรรณ คิลกคุณานันท์, วท.ม.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ปฐมาธิกา หาริณสุต, Dr.Agr.Sci.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์สรัญญา วัชรโรทัย, Dr.rer.nat.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

พฤกษเคมีและศักยภาพของกะเม็ง (*Eclipta alba* (L.) Hassk.) ในการข้อมผมขาว

Phytochemistry and Gray Hair Staining Potential of *Eclipta alba* (L.) Hassk.

โดย

นางสาวพจมาน พิศเพียงจันทร์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร)

พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ทางพิษเคมีของกะเม็งที่สกัดด้วย dichloromethane, ethyl acetate และ butanol จากสารสกัดทุกส่วนของพืชด้วย methanol เมื่อนำมาวิเคราะห์เบื้องต้นพบสารกลุ่ม coumarin ในสารสกัดด้วย dichloromethane และ ethyl acetate แต่ไม่พบสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid ในสารสกัดด้วย ethyl acetate แต่ไม่พบสารกลุ่ม coumarin, steroid และ triterpenoid ในสารสกัดด้วย butanol เมื่อนำสารสกัดด้วย ethyl acetate มาแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค dry column chromatography พบผลิตภัณฑ์เพิ่มสี่สีเหลืองอ่อน เมื่อนำผลิตภัณฑ์นั้นมาตรวจสอบด้วยเทคนิค spectroscopy (UV, FT-IR, MS, NMR) และวัดค่าจุดหลอมเหลว พบว่าผลิตภัณฑ์นั้นคือสาร wedelolactone

การเปรียบเทียบความสามารถในการย้อมติดสีผงขาวที่เป็นผงขาวธรรมชาติ และเส้นผมขาวจากการฟอกสี โดยใช้สารสกัดกะเม็งด้วย methanol, dichloromethane, น้ำ และสารสกัดกะเม็งด้วย methanol ที่ผสมสาร mordant ($\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ที่มีความเข้มข้นของสารสกัดร้อยละ 20 ในน้ำ โดยย้อมสีเป็นเวลา 2 ชั่วโมง วัดค่าสีเปรียบเทียบกับเส้นผมที่ไม่ผ่านการย้อม พบว่าเส้นผมขาวทั้ง 2 ชนิดที่ย้อมในสารสกัดที่ไม่ผสมสาร mordant ย้อมติดสีเหลือง เมื่อเติมสาร mordant ลงในสารสกัดด้วย methanol แล้วย้อมผมขาวทั้ง 2 ชนิด พบว่าเส้นผมติดสีเทาเข้มเกือบดำ และยังพบว่าเส้นผมขาวฟอกสีนั้นย้อมติดสีได้ดีกว่าผงขาวธรรมชาติ

_____ / _____ / _____
 ลายมือชื่อนิติ ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Potechaman Pitpiangchan 2011: Phytochemistry and Gray Hair Staining Potential of *Eclipta alba* (L.) Hassk. Master of Science (Botany), Major Field: Botany, Department of Botany. Thesis Advisor: Associate Professor Syarunya Vajrodiya, Dr.rer.nat.
80 pages.

Phytochemical analyses of dichloromethane, ethyl acetate and butanolic extracts from methanolic whole plant extract of *Eclipta alba* (L.) Hassk. had been done by preliminary phytochemical screening. It was showed that coumarin, steroid and triterpenoids are constituents in dichloromethane extract, but there is only coumarin in ethyl acetate extract. None of these compounds was found in butanolic extract. Wedelolactone, the translucent-pale yellow needle shape crystal was isolated from the ethyl acetate extract by using dry column chromatography technique. The structure elucidation had been analysed by using spectroscopy technique (UV, FT-IR, MS, NMR) as well as melting point measurement.

The gray hair staining potential of *E. alba* whole plant extracts was investigated by dyed 2 types of gray hair i.e. natural gray hair and bleaching hair with methanolic, dichloromethane, water extract and methanolic extract combined with mordant ($\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$) in the concentration of 20 % of the extract in water. Gray hair were dyed for 2 hour. The colour of dyeing and control hairs were detected by colour meter. The results showed that which were dyed with all extracts showed yellow colour, but the methanolic extract combined with mordant showed darken colour. Bleaching hair showed higher potential to be stained than natural gray hair.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สรัญญา วัชรโรทัย กรรมการที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์หลัก อาจารย์ อุไรวรรณ คิลกคุณานันท์ และรองศาสตราจารย์ ปุณฺณทริกา หะริณสูตร กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือในด้านต่างๆ สำหรับการ ทดลอง และสละเวลาตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบพระคุณ อาจารย์ดร. เนตรนภิส เขียวจำ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่สละเวลาในการสอบและแก้ไขข้อบกพร่อง ต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ รวมถึงคณาจารย์ภาควิชาพฤกษศาสตร์ทุกท่านที่ให้คำชี้แนะจน วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณหัวหน้าหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีสมุนไพรรและความหลากหลายทางชีวภาพ และนักวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ที่ให้ความ อนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ และเครื่องมือต่างๆ ในการทำวิจัย รวมทั้งคำชี้แนะ และความช่วยเหลือ ด้วยดีตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวที่ให้การสนับสนุน และ ส่งเสริมด้านการศึกษาตลอดมา

พจมาน พิศเพียงจันทร์

เมษายน 2554

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	29
ผลและวิจารณ์	42
ผล	42
วิจารณ์	57
สรุปและข้อเสนอแนะ	60
สรุป	60
ข้อเสนอแนะ	60
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	61
ภาคผนวก	70
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	80

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สารทุติยภูมิสำคัญในกลุ่ม triterpenoid glycoside และกรด echinostic ที่พบในกะเม็ง	11
2	ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดกะเม็ง	14
3	ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	16
4	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)	17
5	ระบบสารละลายอินทรีย์ผสมที่ใช้แยกสารสกัดส่วน dichloromethane	31
6	ระบบสารละลายอินทรีย์ผสมที่ใช้แยกสารสกัดส่วน ethyl acetate	31
7	ผลการสกัดกะเม็งจากแหล่งต่างๆ	42
8	แสดงค่า R_f values ของการเรียงแสงของสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane	43
9	แสดง retention time (R_t) ของ peak ใน HPLC chromatogram ของสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane และสารที่แยกด้วย dry column chromatography (DCC) และ middle pressure liquid chromatography (MPLC)	46
10	แสดง retention time (R_t) ของสารสกัดจากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด และสารบริสุทธิ์	52
11	ค่าเฉลี่ย L^* , a^* , b^* , C^* , h° ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสกัดจากกะเม็ง	55
ตารางผนวกที่		
1	ค่าความมืด-ความสว่าง (L^*) ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็ง	77
2	ค่าความเป็นสีแดง-สีเขียว (a^*) ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็ง	77
3	ค่าความเป็นสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b^*) ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็ง	78
4	ค่าความบริสุทธิ์-สโตไคของสี (C^*) ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็ง	78
5	ค่าตำแหน่งสี (h°) ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็ง	79

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กะเม็ง <i>Eclipta alba</i> (L.) Hassk.	4
2	สารสำคัญในทุกส่วนของกะเม็งคือ wedelolactone และ demethylwedelolactone	8
3	สารสำคัญในกลุ่มอนุพันธ์ thiopene คือ dithienylacetylene และ dithienylacetylene ester	8
4	สารสำคัญของกะเม็งในกลุ่ม steroidal alkaloids 8 ชนิด	9
5	สารสำคัญในกลุ่ม flavonoid	10
6	แสดงภาพเส้นผมขนาดขยายเมื่อผ่าตามขวางและตามยาว	24
7	CIELAB 1976 แสดง CIE L* a* b* color space	27
8	แผนผังแสดงการสกัดแยกสารให้บริสุทธิ์ตามการสกัดวิธีที่ 1	33
9	แผนผังแสดงการสกัดแยกสารให้บริสุทธิ์ตามการสกัดวิธีที่ 2	34
10	เปรียบเทียบรูปแบบทางเคมีของสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane ของกะเม็งที่เก็บจาก 3 แหล่ง ภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 365 nm	43
11	ผลการตรวจสอบสารกลุ่ม coumarin ของสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane, ethyl acetate และ butanol	44
12	ผลการตรวจสอบสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid ของสารกะเม็งด้วย dichloromethane ด้วย Anisaldehyde - sulfuric acid	45
13	เปรียบเทียบ HPLC chromatogram ของสารสกัดด้วย dichloromethane และ fraction ที่แยกออกมาจาก dry column chromatography (DCC fraction 1-3)	47
14	เปรียบเทียบ HPLC chromatogram ของ fraction 3 จาก dry column chromatography (DCC fraction 3) และ chromatogram ของสารที่แยกจาก DCC fraction 3 โดยใช้เทคนิค MPLC (MPLC fraction 1-2)	48
15	การตรวจสอบสาร wedelolactone ด้วย TLC ได้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 365 nm	49
16	HPLC chromatogram และ UV spectrum ของ wedelolactone	50

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
17	เปรียบเทียบ HPLC chromatogram ของสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane, ethyl acetate และ butanol	53
18	เส้นผมขาวธรรมชาติที่เชื่อมด้วยสารสกัดจากกะเม็งเปรียบเทียบกับชุดควบคุม	56
19	เส้นผมฟอกสีที่เชื่อมด้วยสารสกัดจากกะเม็งเปรียบเทียบกับชุดควบคุม	56
ภาพผนวกที่		
1	UV spectrum ของสาร wedelolactone	72
2	FT-IR spectrum ของสาร wedelolactone	73
3	Mass spectrum (HRMS) ของ wedelolactone	74
4	Proton spectrum (^1H NMR) ของสาร wedelolactone ใน DMSO-d_6	75
5	Carbon spectrum (^{13}C NMR) ของสาร wedelolactone ใน DMSO-d_6	76

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

TLC	=	Thin Layer Chromatography
HPLC	=	High Performance Liquid Chromatography
MPLC	=	Medium Pressure Liquid Chromatography
UV	=	Ultraviolet
CH_2Cl_2	=	Dichloromethane
MeOH	=	Methanol
R_f	=	Relative front
R_t	=	Retention time
nm	=	Nanometer
min	=	Minute
ppm	=	Parts permillion
ml	=	Milliliter
g	=	Gram
%	=	Percent
g/mole	=	Gram per mole

พฤกษเคมีและศักยภาพของกะเม็ง (*Eclipta alba* (L.) Hassk.) ในการย้อมผมขาว

Phytochemistry and Gray Hair Staining Potential of *Eclipta alba* (L.) Hassk.

คำนำ

กะเม็ง (*Eclipta alba* (L.) Hassk.) เป็นพืชในวงศ์ Asteraceae พบได้ทั่วไปโดยเฉพาะในบริเวณที่มีความชื้นสูง มักพบเป็นวัชพืชทางการเกษตร แต่กะเม็งกลับมีประโยชน์มากมายในการใช้เป็นยารักษาอาการของโรคต่างๆ เช่น โรคตับ โรคผิวหนัง แก้ไข้ ขับเสมหะ ชำเชื้อจุลินทรีย์ ป้องกันผมหงอก ผมร่วง เป็นต้น ซึ่งในอินเดียมีการใช้กะเม็งเป็นยาอย่างแพร่หลาย ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยคุณสมบัติของสารเคมีที่ได้จากกะเม็ง และนำผลการวิจัยนั้นมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากกะเม็ง เช่น ผลิตภัณฑ์ในรูปของแคปซูล เพื่อบำรุง และกำจัดพิษที่ตับ หรือผลิตภัณฑ์บำรุงเส้นผม น้ำมันใส่ผม เพื่อป้องกันผมร่วง ในขณะที่ประเทศไทยมีการใช้กะเม็งเป็นยาสมุนไพรเช่นเดียวกันแต่ข้อมูลการวิจัยกะเม็งยังมีไม่มากนัก อีกทั้งในปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรมากขึ้น และหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมีโดยเฉพาะในด้านสุขภาพและความงาม ดังนั้นกะเม็งจึงอาจเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีความรู้การศึกษาสารสำคัญจากทุกส่วนของพืช ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพ เป็นพื้นฐานงานวิจัยทั้งทางการแพทย์ การสาธารณสุข และการเกษตร เพื่อให้ได้สารหรือตัวยานำไปใช้ประโยชน์โดยมีต้นทุนต่ำและปลอดภัยเนื่องจากเป็นสารธรรมชาติ ทดแทนการใช้สารเคมีซึ่งจะทำให้ลดอัตราการนำเข้าผลิตภัณฑ์สารเคมีจากต่างประเทศให้ลดลงในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสารสำคัญที่มีในส่วนต่างๆ ของกะเม็ง
2. ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดที่มีศักยภาพในการยับยั้งเชื้อ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรต่อไป



การตรวจเอกสาร

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกะเม็ง

กะเม็ง มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Eclipta alba* (L.) Hassk. อยู่ในวงศ์ Compositae หรือ Asteraceae (วงศ์ทานตะวัน) มีชื่อพ้องคือ *E. prostrata* L. และมีชื่อสามัญ False daisy, White head (เต็ม, 2544) เป็นไม้ล้มลุกอายุปีเดียว ลำต้นตั้งตรงมีสีเขียวหรือสีน้ำตาลแดง มีขนอ่อนหรือค่อนข้างเกลี้ยง แตกกิ่งก้านที่โคน ใบเดี่ยว ออกตรงข้าม มีลักษณะรี รูปหอก ยาวประมาณ 4 - 10 เซนติเมตร และกว้าง 0.8 - 2 เซนติเมตร โคนใบสอบแคบ ปลายค่อนข้างแหลม ขอบใบเรียบ ค่อนข้างจักเป็นเลื่อย เนื้อใบบางคล้ายกระดาษ และมีขนอ่อนสีขาวทั้ง 2 ด้าน ไม่มีก้านใบหรือก้านใบสั้นมาก ช่อดอกออกตามซอกใบ มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 6 มิลลิเมตร กลีบดอกสีขาว ดอกวงนอกเป็นรูปร่างยาวประมาณ 2.5 มิลลิเมตร ตอนปลายจักเป็น 2 แฉก หรือเรียบ ดอกวงในเชื่อมติดกันเป็นรูปท่อยาวประมาณ 2 มิลลิเมตร ปลายจักเป็น 4 แฉก ผลแห้ง รูปลูกข่าง กว้าง 1.5 มิลลิเมตร ยาว 3 - 3.5 มิลลิเมตร สีดำ ที่ปลายมีรยางค์เป็นเกล็ด (กองกานดา, 2528) ดังแสดงในภาพที่ 1

เขตการกระจายพันธุ์

กะเม็งขึ้นได้ทั่วไปในบริเวณที่มีความชุ่มชื้น และมีการกระจายพันธุ์ในเขตร้อนทั่วโลก พบได้ตั้งแต่ จีน เอเชียใต้คือ อินเดีย ศรีลังกา มาถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และหมู่เกาะแปซิฟิก (Zafar and Sagar, 1999; Jayathirtha and Mishra, 2004; Dhaka and Kothari, 2005)



ภาพที่ 1 กะเม็ง *Eclipta alba* (L.) Hassk.

ที่มา: ก่องกานดา (2528)

การใช้ประโยชน์ของกะเม็ง

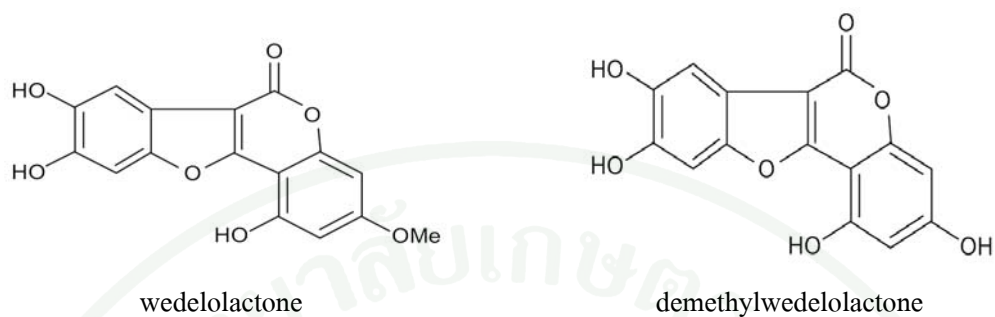
มีการนำกะเม็งมาใช้ประโยชน์ในด้านสมุนไพรบำบัดโรคมาตั้งแต่โบราณสรรพคุณคือ ทั้งต้นเป็นยาฟาดสมาน บำรุงตับ และโลหิต แก้กระษัย พอกแผลสดห้ามเลือด แผลฟกช้ำ รักษาอาการของโรคผิวหนังกลากเกลื้อนเนื่องจากเชื้อรา น้ำคั้นปนกลั่นหอมใช้สูดดมแก้หวัดน้ำมูกไหล และโรคฝีช้ำ ผสมกับพริกไทยป่น และน้ำผึ้งกวนเป็นลูกกลอนกินเป็นประจำเข้าเย็นช่วยให้ร่างกายแข็งแรง แก้ปวดเมื่อย แก้น้ำกัดเท้า น้ำคั้นจากใบสดผสมกับน้ำมันมะพร้าวขโลมช่วยให้ผดผื่นคันเป็นมันลดอาการผดผื่น แก้ผดผื่นก่อนวัย ใบและดอกต้มทาเหงือกแก้ปวดฟัน ใบและรากใช้เป็นยาถ่าย และทำให้อาเจียน รากใช้ขับลม แก้อท้องเฟ้อ แก้โรคโลหิตจาง โรคปอด ท้องร่วง โรคบิด หอบหืด แก้มวิงเวียน แก้โรคตับและมะเร็งพิการ (ก่องกานดา, 2528; วิทย์, 2531; นันทวัน, 2539)

การใช้ประโยชน์จากกะเม็งในด้านการเป็นสารสี จากรายงานของ Devi *et al.* (2002) กล่าวว่ากะเม็งเป็นพืชซึ่งพบได้ง่ายในอินเดีย และเป็นแหล่งวัตถุดิบที่ดีสำหรับสีจากธรรมชาติที่ใช้ในการย้อมไหมให้โทนสีเขียว และเมื่อเติมสารช่วยย้อมติดสีได้แก่ อะลูมิเนียม, โครเมียม, คอปเปอร์ซัลเฟต และเหล็กซัลเฟตในอัตราส่วนต่างๆ พบว่าในการย้อมไหมได้สีในโทนสีที่คล้ำขึ้น เช่นเดียวกับรายงานของ Vankar *et al.* (2007) ที่ได้ศึกษาเปรียบเทียบการย้อมสีผ้าฝ้ายด้วยสีธรรมชาติจากกะเม็งโดยวิธีดั้งเดิมกับการย้อมด้วย sonicator method พบว่าผลการย้อมด้วยวิธีหลังทำให้ผ้าย้อมติดสีได้เร็วและติดสีได้ดี และการใช้สารช่วยย้อมติดสีอื่นได้แก่ อะลูมิเนียม, เหล็กซัลเฟต, สแตนเลส คลอไรด์, คอปเปอร์ซัลเฟต, โพแทสเซียมไดโครเมต และสแตนนิคคลอไรด์ ในการย้อมด้วย sonicator method ได้ผ้าที่มีโทนสีเขียวที่แตกต่างกันตั้งแต่สีอ่อนจนถึงสีเข้ม จากการศึกษาของจุฑามาศ และคณะ (2545) ศึกษาการทำหมึกโรเนียวจากกะเม็ง ซึ่งพบเป็นพืชที่มีมากในท้องถิ่น โดยการนำกะเม็งมาแช่กับสนิมเหล็กให้น้ำหมึกสีดำ จากนั้นทำให้แห้งเป็นผงกะเม็ง นำผงกะเม็งที่ได้มาเกี่ยวกับน้ำมันงา และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จนหมึกมีเนื้อละเอียด ผสมผงสีดำของเขม่าน้ำมันก๊าด เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น เพื่อให้มีสีดำติดทนนานจึงเติมสารสัปปาราฟินเหลว น้ำมันก๊าด และน้ำมันสนลงไป ได้สารที่มีลักษณะคล้ายหมึกโรเนียว เมื่อเปรียบเทียบกับหมึกโรเนียวในท้องตลาดพบว่าหมึกโรเนียวที่ได้จากกะเม็งมีคุณสมบัติติดทนเช่นเดียวกับหมึกโรเนียวตามท้องตลาด

ประโยชน์ของกะเม็งต่อเส้นผม Boulos *et al.* (1984) และ Keys (1990) กล่าวว่าในตำรับของยาพื้นบ้านของอินเดียนั้นมิได้ใช้น้ำคั้นจากต้นสดเพื่อให้เส้นผมดำเท่านั้น แต่เพื่อป้องกันผมร่วง และทำให้เส้นผมเจริญขึ้นใหม่อีกด้วย เช่นเดียวกับ Lewis *et al.* (1977) ได้รายงานว่า หญิงสูงอายุในเขตร้อนนำกะเม็งซึ่งหาได้ง่ายในแถบนั้นมาคั้น แล้วนำน้ำคั้นมาใช้ล้างเส้นผมเพื่อป้องกันไม่ให้ผมหงอก สอดคล้องกับการรายงานของ Thakur *et al.* (1989) กล่าวว่าในตำรายาพื้นบ้านของอินเดียได้ใช้กะเม็งเป็นสมุนไพรหลักในน้ำมันใส่ผม และมีการใช้ร่วมกับบัวบก (*Centella asiatica*) และมะขามป้อม (*Phyllanthus emblica*) กะเม็งมีคุณสมบัติในการรักษาโรคผิวหนัง ลดอาการอักเสบ บวมพอง และแผลงกัดตื้อ มีวิธีใช้โดยการสับให้ละเอียดแล้วนำมาพอกตรงบริเวณที่ต้องการรักษา หรือนำน้ำคั้นของกะเม็งมาผสมรวมกับสลอด (*Croton tiglium*), พริกไทย (*Piper nigrum*), ดีปลี (*P. Longum*), จิง (*Zingiber officinale*) และแร่ เช่น พรอท, ทองแดง, อาร์ซีนิก, บอร์เร็กซ์ เป็นต้น เพื่อใช้วาดตามร่างกายที่เรียกว่า Hab Miskeen Nawaz และนำมาส่วนผสมนี้มาประยุกต์ใช้กับเส้นผม นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพัฒนาสูตรสมุนไพรเพื่อบำรุงเส้นผมดังเช่นการศึกษาของ Adhirajan *et al.* (2001) ที่ผสมสารสกัดจากปิโตรเลียมอีเทอร์ของกะเม็ง, *Citrullus colocynthis* Shrad. และตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens*) ในอัตราส่วน 3: 2: 1 ลงในสูตรครีม และน้ำมันสมุนไพร พบว่าทำให้เส้นผมงอกได้ดีมากถึง 35 % เมื่อเทียบกับสารมาตรฐานคือ 2 % Minoxidil ethanolic solution ที่มีผลต่อการงอกของเส้นผมเพียง 20 %

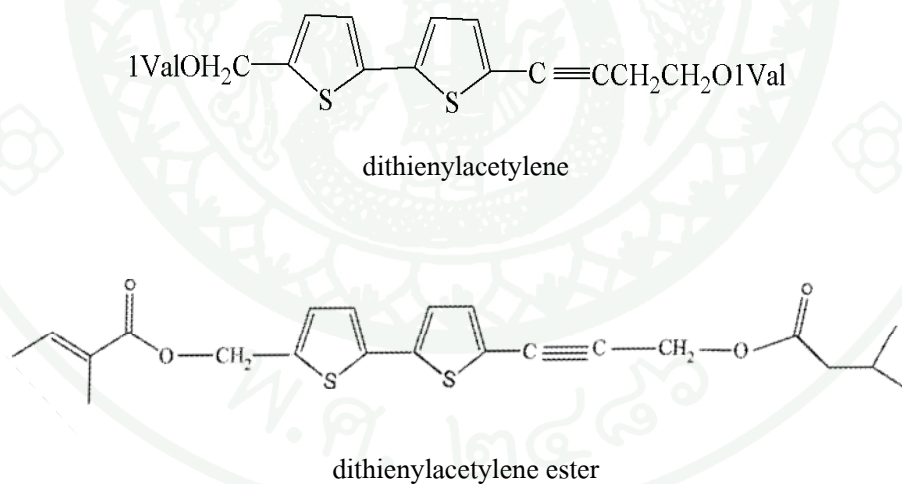
สารทุติยภูมิสำคัญที่พบในกะเม็ง

สารทุติยภูมิที่สำคัญของกะเม็งที่พบในทุกส่วนคือ wedelolactone และ demethylwedelactone (ภาพที่ 2) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ coumestans และเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญเช่น รักษาอาการ โรคตับ (Wagner *et al.*, 1986; Zafar and Sagar, 1999; Jayathirtha and Mishra, 2004; Thakur and Mengi, 2005; Vankar *et al.*, 2007; Baskaran and Jayabalan, 2005) ส่วน Singh *et al.* (1985) พบ สารสำคัญในกลุ่ม thiopene acetylene ซึ่งพบมากในส่วนราก และพบในส่วนเหนือดินของกะเม็งคือ dithienylacetylene และต่อมา Singh and Bhargava (1992) ได้ศึกษาสารสำคัญในรากของกะเม็งพบ สารที่เป็นอนุพันธ์ของ thiopene คือ dithienylacetylene ester มีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลือง ซึ่งมีสูตร โครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 3 นอกจากนี้ Yahara *et al.* (1994) รายงานว่าพบสารกลุ่ม taraxastane glycosides หรือสารกลุ่ม oleanane - type triterpenoid 6 ชนิด คือ eclabasaponins I-VI และกรด echinostic จากทุกส่วนของกะเม็งที่เก็บได้ในญี่ปุ่น และพบสาร eclabasaponins VII-X ในกะเม็ง เช่นกันจากการศึกษาของ Yahara *et al.* (1997) นอกจากนี้มีรายงานการพบสารในกลุ่มนี้บางชนิด โดย Rahman *et al.* (2005); Lee *et al.* (2008) ดังแสดงในตารางที่ 1 นอกจากนี้ยังพบว่ากะเม็งมีสาร ออกฤทธิ์ในกลุ่ม steroidal alkaloids 8 ชนิดคือ (1) 20-*epi*-3-Dehydroxy-3-oxo-5,6-dihydro-4,5-dehydroverazine (2) 20-*epi*-Verazine (3) Verazine (4) Ecliptaline (5) 20-*epi*-4 β -Hydroxyverazine (6) 4 β -Hydroxyverazine (7) 20-*epi*-25 β -Hydroxyverazine และ(8) 25 β -Hydroxyverazine (Abdel-Kader *et al.*, 1998) ดังแสดงในภาพที่ 4 ส่วน Baskaran and Jayabalan (2005) พบสาร alpha-amyrin, ursolic acid และ oleanolic acid และ Vankar *et al.* (2007) ได้รายงานว่าสารที่สำคัญของ กะเม็งนั้นอยู่ในกลุ่มของ flavonoid คือ luteolin-7 รวมทั้งจากรายงานของ Lee *et al.* (2009) พบสาร กลุ่ม flavonoid เช่นกันคือ diosmetin, 3'-hydroxybiochanin A และ 3'-O-methylorobol ดังแสดงใน ภาพที่ 5 นอกจากนี้ Roy *et al.* (2008) รายงานว่าพบสาร β -sitosterol ในสารสกัดกะเม็งด้วย petroleum ether ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นการงอกของเส้นผม



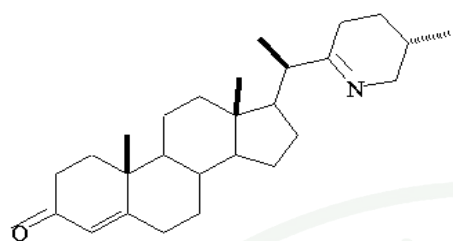
ภาพที่ 2 สารสำคัญในทุกล้วนของกะเม็งคือ wedelolactone และ demethylwedelolactone

ที่มา: Zafar and Sagar (1999)

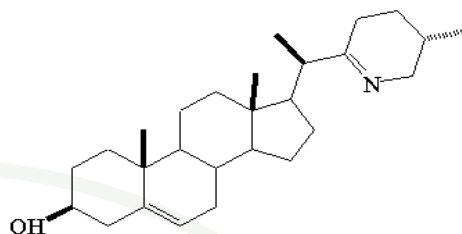


ภาพที่ 3 สารสำคัญในกลุ่มอนุพันธ์ thiophene คือ dithienylacetylene และ dithienylacetylene ester

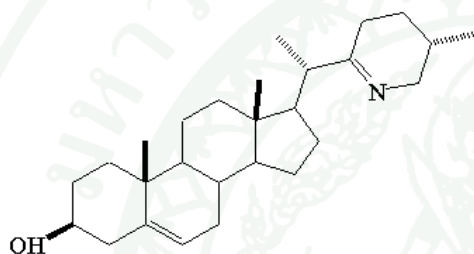
ที่มา: Singh *et al.* (1985); Singh and Bhargava (1992)



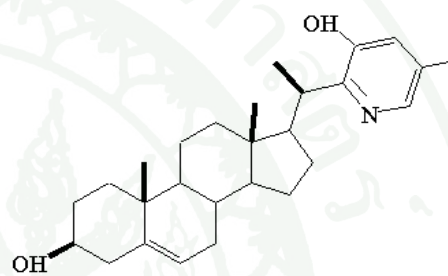
20-*epi*-3-dehydroxy-3-oxo-5,6-dihydro-4,5-dehydroverazine



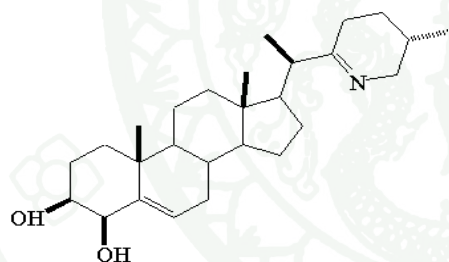
20-*epi*-verazine



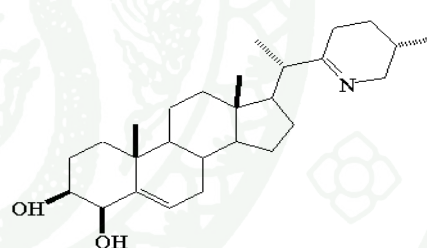
verazine



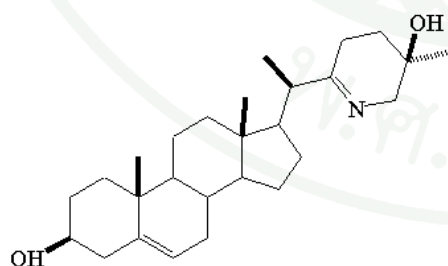
ecliptaline



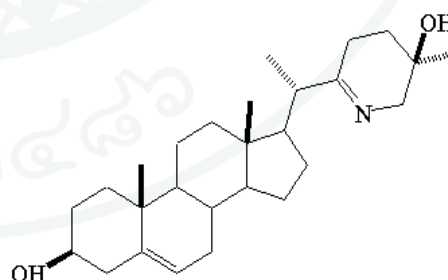
20-*epi*-4 β -hydroxyverazine



4 β -hydroxyverazine



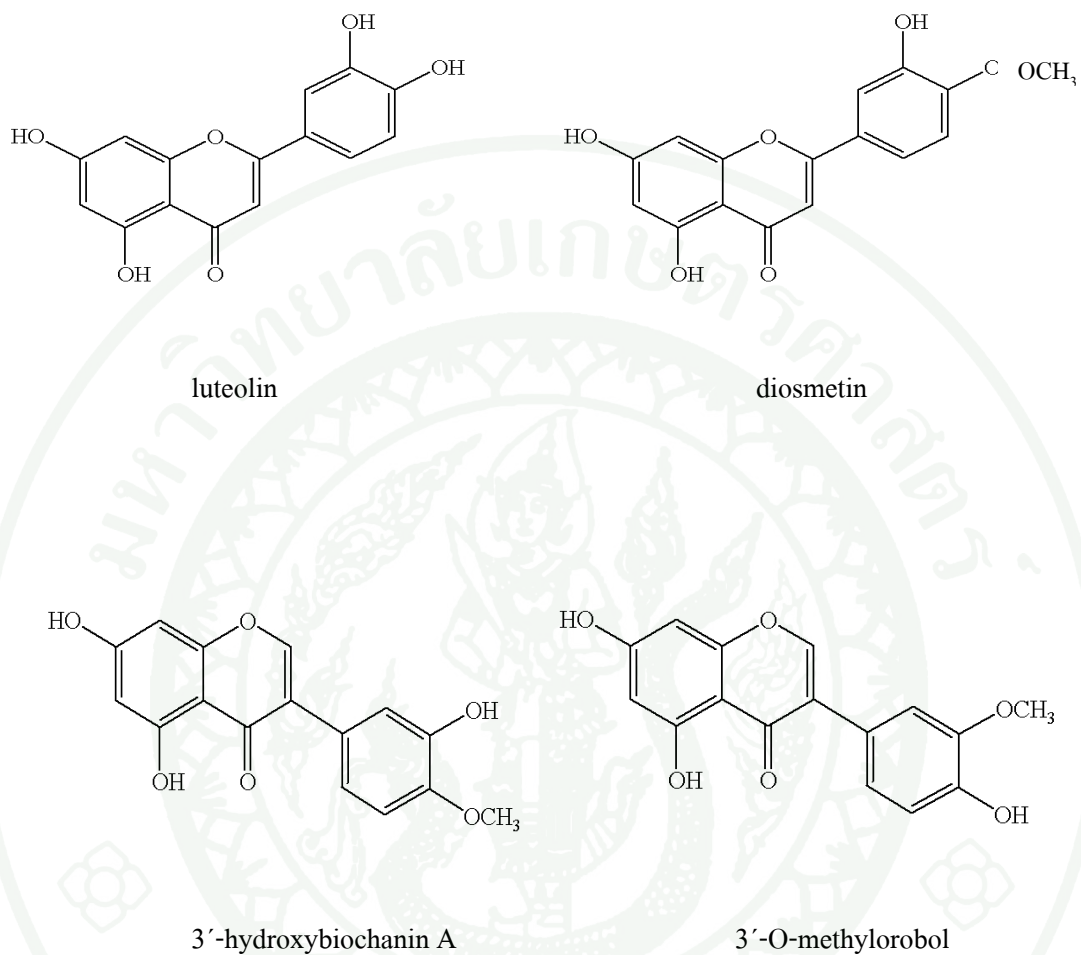
20-*epi*-25 β -hydroxyverazine



25 β -hydroxyverazine

ภาพที่ 4 สารสำคัญของกะเม็งในกลุ่ม Steroidal alkaloids 8 ชนิด

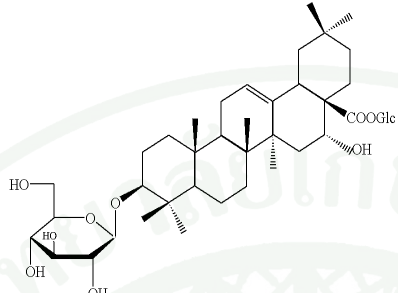
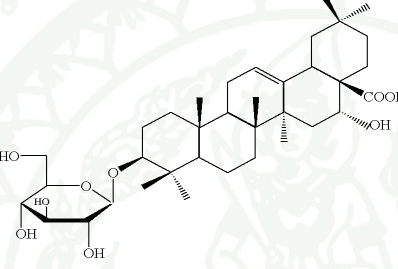
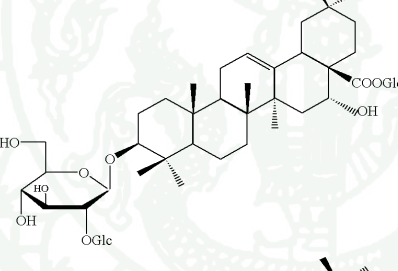
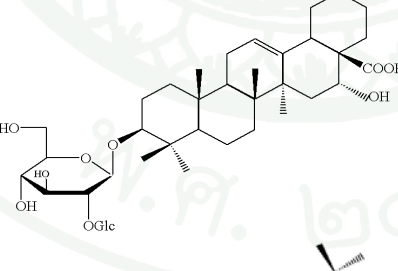
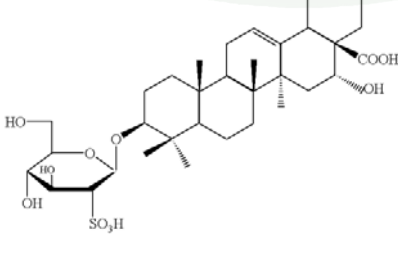
ที่มา: Abdel-Kader *et al.* (1998)



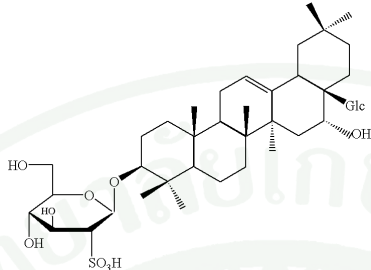
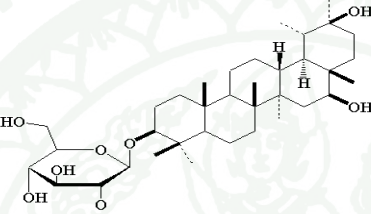
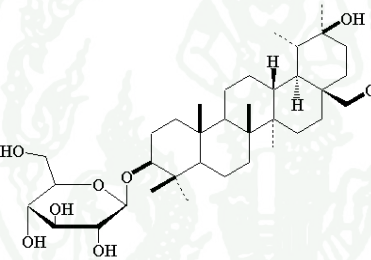
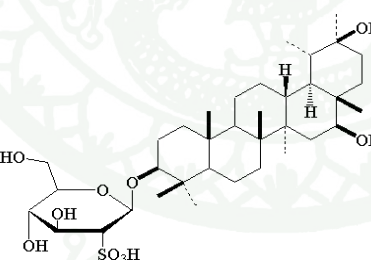
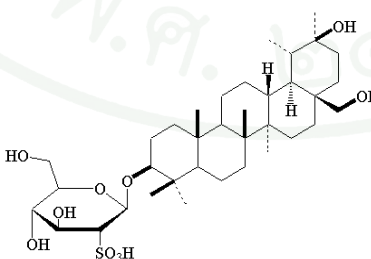
ภาพที่ 5 สารสำคัญในกลุ่ม flavonoid

ที่มา: Vankar *et al.* (2007); Lee *et al.* (2009)

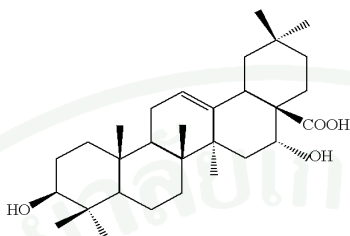
ตารางที่ 1 สารพฤกษเคมีสำคัญในกลุ่ม triterpenoid glycoside และกรด echinostic ที่พบในกะเม็ง

ชื่อ	โครงสร้าง	ส่วนที่พบ	ผู้รายงาน
eclalbasaponins I		ทุกส่วน ส่วนเหนือดิน	Yahara <i>et al.</i> 1994 Rahman <i>et al.</i> 2005 Lee <i>et al.</i> 2008
eclalbasaponins II		ทุกส่วน ส่วนเหนือดิน	Yahara <i>et al.</i> 1994 Rahman <i>et al.</i> 2005 Lee <i>et al.</i> 2008
eclalbasaponins III		ทุกส่วน ส่วนเหนือดิน	Yahara <i>et al.</i> 1994 Lee <i>et al.</i> 2008
eclalbasaponins IV		ทุกส่วน	Yahara <i>et al.</i> 1994
eclalbasaponins V		ทุกส่วน ส่วนเหนือดิน	Yahara <i>et al.</i> 1994 Lee <i>et al.</i> 2008

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชื่อ	โครงสร้าง	ส่วนที่พบ	ผู้รายงาน
eclalbasaponins VI		ทุกส่วน	Yahara <i>et al.</i> 1994
eclalbasaponins VII		ทุกส่วน	Yahara <i>et al.</i> 1994
eclalbasaponins VIII		ทุกส่วน	Yahara <i>et al.</i> 1997
eclalbasaponins IX		ทุกส่วน	Yahara <i>et al.</i> 1997
eclalbasaponins X		ทุกส่วน	Yahara <i>et al.</i> 1997

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชื่อ	โครงสร้าง	ส่วนที่พบ	ผู้รายงาน
echinocystic acid		ทุกส่วน ส่วนเหนือดิน	Yahara <i>et al.</i> 1997 Lee <i>et al.</i> 2008

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารทุติยภูมิสำคัญที่พบในกะเม็ง

จากการรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารทุติยภูมิที่สำคัญของสารสกัดจากกะเม็ง
อันได้แก่ ฤทธิ์ในทางเภสัชวิทยา การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และการต้านอนุมูลอิสระ ดังแสดงในตาราง
ที่ 2 - 4 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดกะเม็ง

สารสำคัญ	ตัวทำละลาย อินทรีย์ที่ใช้สกัด	อาการ/การทดสอบ	อ้างอิง
wedelolactone	ethyl acetate	ยับยั้งการเป็นพิษที่ตับ	Wagner <i>et al.</i> (1986)
wedelolactone		อาการที่เกิดจากพิษงู เช่น การตก เลือด อาการบวม น้ำ ความ เสียหายของกล้ามเนื้อ	Melo (1997)
butanolic และ purified butanolic extract	bultanol	Anti-venom potential	Pithayanukul <i>et al.</i> (2004)
สารสกัดหยาบ	50 % ethanol	ป้องกันตับหนูขาวจากการถูก ทำลายโดยพาราเซตามอล (paracetamol) ที่ได้รับเข้าสู่ ร่างกาย	Tabassum and Agrawal (2004)
สารสกัดหยาบ alkaloid	ethanol	บรรเทาอาการเจ็บปวดของหนู ขาวที่ถูกทดสอบโดยวิธี tail clip method, tail flick method และ การบีดชักอันเนื่องจาก acetic acid	Sawant <i>et al.</i> (2004)
สารสกัดหยาบ	methanol	ปัจจัยสร้างภูมิคุ้มกัน immunomodulatory activity	Jayathiratha and Mishra (2004)
wedelolactone	ethanol / ethyl acetate fraction	Inhibits LPS-induced caspase-11 expression	Kobori <i>et al.</i> (2004)
สารสกัดหยาบ	ethanol	ยาระงับประสาท ลดอาการเกรียดย ช่วยป้องกันการเกิดแผลใน กระเพาะอาหาร และทำให้เม็ด เลือดขาวมีจำนวนปกติ	Thakur and Mengi (2005)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

สารสำคัญ	ตัวทำละลาย อินทรีย์ที่ใช้สกัด	อาการ/การทดสอบ	อ้างอิง
สารสกัดหยาบ	chloroform methanol water	ต้านเอนไซม์ HIV-1 integrase	Tewtrakul <i>et al.</i> (2006)
สารสกัดหยาบ	90 % ethanol	ลดปริมาณไขมันในเลือดตับ และหัวใจ	Kumari <i>et al.</i> (2006)
wedelolactone	dichloromethane/ methanol	Inhibit HIV-1 Protease and HIV- 1 Integrase	Tewtrakul <i>et al.</i> (2007)
eclalbasaponon I-III, eclalbasaponon V, echinocystic acid	80 % methanol	Antiproliferative activity	Lee <i>et al.</i> (2008)
diosmetin, 3'-hydroxybiochanin A, 3'-O-methylorobol	80 % methanol	เพิ่มปริมาณเซลล์ที่สร้างกระดูก จากการทดสอบด้วยปฏิกิริยา alkaline phosphatase activity	Lee <i>et al.</i> (2009)
wedelolactone demethylwedelolactone	methanol	ยับยั้งพิษงู และเอนไซม์ Phospholipases A ₂	Diogo <i>et al.</i> (2009)

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

สารสำคัญ	ตัวทำละลาย อินทรีย์ที่ใช้สกัด	ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์	อ้างอิง
steroidal alkaloids 8 ชนิด	methanol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 1138, 1140 และ 1353 และ <i>Candida albicans</i>	Abdel-Kader <i>et al.</i> (1998)
สารสกัดหยาบ	methanol	<i>Bacillus cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Candida albicans</i> และ <i>Staphylococcus aureus</i>	Wiar <i>et al.</i> (2004)
สารสกัดหยาบ	ethyl acetate ethanol	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> และ <i>Staphylococcus aureus</i>	Karthikumar <i>et al.</i> (2007)
สารสกัดหยาบ	ethanol water	<i>Leptospira interrogans</i> , <i>L. australis</i> , <i>L. autumnalis</i> และ <i>L. grippotyphosa</i>	Prabhu <i>et al.</i> (2008)
saponin fraction	methanol	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Samonella typhi</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. flavus</i> และ <i>A. niger</i>	Gopiesh khanna and Kannabiran (2008)

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารสำคัญ	ตัวทำละลาย อินทรีย์ที่ใช้สกัด	กลไกการยับยั้ง/ วิธีทดสอบ	อ้างอิง
luteolin, wedelolactone, demethylwedelolactone	2% acetic acid ใน ethanol	DPPH method	Thanh and Dau (2006)
สารสกัดหยาบ	ethyl acetate ethanol	lipid peroxidation	Karthikumar <i>et al.</i> (2007)
สารสกัดหยาบ	methanol	radical scavenging activity	Unnikrishnan <i>et al.</i> (2007)

การตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญ

รัตน (2547) เสนอว่าการตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารพฤกษเคมีกลุ่มต่างๆ ในพืชควรเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว และค่อนข้างจำเพาะกับกลุ่มสารเคมีที่ต้องการ ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

1. การตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาสีหรือการเกิดตะกอน โดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมีง่ายๆ ให้ผลเป็นสีต่างๆ หรือเกิดการขุ่น หรือเกิดตะกอน ซึ่งเป็นวิธีการตรวจสอบเบื้องต้น แต่ไม่จำเพาะกับกลุ่มสารเคมีที่ต้องการ อาจเกิด false positive เนื่องจากสารประกอบอื่นที่ให้ผลเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง และสารสำคัญแต่ละชนิดจะไวต่อน้ำยาตรวจสอบไม่เท่ากัน จึงต้องระมัดระวังเรื่องปริมาณน้ำยาตรวจสอบ อีกทั้งปฏิกิริยาต้องเกิดในสภาวะที่เหมาะสม

2. การตรวจสอบโดยใช้เทคนิค Thin Layer Chromatography การตรวจสอบด้วยวิธีนี้ดีกว่าการตรวจสอบด้วยปฏิกิริยาสีเนื่องจากการเป็นการแยกสาร และตรวจสอบสารไปพร้อมๆ กัน ทำให้ทราบชนิดกลุ่มสาร โดยประมาณและยังเป็นแนวทางในการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกด้วยวิธี Column Chromatography

สารกลุ่ม alkaloid ที่ในโมเลกุลมีในโตรเจนอยู่ มีคุณสมบัติเป็นด่าง มักมีรสขม ส่วนใหญ่เป็นผลึกไม่มีสี สามารถรวมตัวกับกรดอินทรีย์และกรดอนินทรีย์อยู่ในรูปของเกลือ ในธรรมชาติพบในรูปเกลือของกรดอินทรีย์ การตรวจสอบในเบื้องต้นมักตรวจหาแบบคร่าวๆ ว่ามีอยู่ในพืชหรือไม่ โดยทั่วไปอาศัยหลัก alkaloid เกือบทุกชนิดสามารถเกิดตะกอนหรือเกิดการขุ่น หรือเกิดสีกับน้ำยาทดสอบบางชนิดได้ กลไกในการเกิดปฏิกิริยาขึ้นอยู่กับลักษณะทางเคมีของน้ำยาทดสอบแต่ละชนิด ในการตรวจสอบสารกลุ่ม alkaloid ในพืชเบื้องต้นอาจใช้ Dragendorff reagent ในการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสี และในเทคนิค Thin Layer Chromatography ซึ่งผลบวกคือการเกิดตะกอนสีส้ม (วันดี และนพมาศ, 2533; รัตนา, 2547; Cannell, 1998; Houghton and Raman, 1998)

สารกลุ่ม iridiod มีโครงสร้างที่เกิดจาก isoprene 2 unit เชื่อมกันเป็น cyclopentane ring แล้วเชื่อมต่อกับ six-membered oxygen heterocycle ซึ่งในธรรมชาติจะพบ iridiod ในรูปของ iridiod glycoside และสารกลุ่ม iridiod คือ secologanin เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ indole alkaloids (Seigler 1995; Dewick 2002) สารที่ใช้ในการทดสอบ iridiod คือ Wieffering reagent ซึ่งจะให้ผลการทดสอบคือ สีน้ำเงินหรือน้ำตาล (รัตนา, 2547; นันทวัน, 2536)

สารกลุ่ม coumarin สามารถตรวจสอบได้ง่ายโดยใช้ความร้อนทำให้ coumarin ระเหยออกจากตัวอย่าง แล้วดักจับไอสารด้วยกระดาษกรองชุบด่าง จากนั้นนำไปตรวจสอบการเรืองแสงภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 365 nm สารกลุ่ม coumarin จะเรืองแสงสีเขียวเหลือง หรือสีฟ้า ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเปิดของ lactone ring เมื่อ coumarin ทำปฏิกิริยากับด่างได้เป็นเกลือของ o-hydroxycinnamic acid ในรูปของ cis-form ซึ่งไม่เรืองแสง ต่อเมื่อถูก irradiate ด้วยแสง UV จึงเกิด isomerization ได้เป็น trans-form และเรืองแสง (ถนอมศรี และอ้อมบุญ, 2533; รัตนา, 2547; Cannell, 1998)

สารกลุ่ม steroid-triterpenoid ตรวจสอบด้วย Liberman-Burchard test ซึ่งประกอบด้วยกรด acetic anhydride- sulfuric acid ให้สีน้ำเงิน หรือม่วง สำหรับสาร steroid หรืออาจให้สีม่วงหรือสีเหลือง หรือสีน้ำเงิน น้ำเงินเขียว ของสาร steroidal sapogenin ส่วนสารกลุ่ม triterpenoid ให้สีแดง ชมพู หรือม่วงแดง หรือตรวจสอบด้วย Anisaldehyde – sulfuric acid reagent และ Vanillin - sulfuric acid reagent โดยสเปรย์ลงบน Thin Layer Chromatography ให้ผลของ steroidal sapogenin สีน้ำเงิน หรือสีน้ำเงิน-ม่วง มีบ้างที่เป็นสีเหลือง (ถนอมศรี และอ้อมบุญ, 2533; รัตนา, 2547; Cannell, 1998)

สารกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็น unsaturated lactone ring เมื่อนำมาตรวจสอบโดยการทำปฏิกิริยากับสารทดสอบที่เป็น aromatic nitrogen compound ในภาวะที่เป็นด่าง สารทดสอบมีชื่อว่า Kedde's reagent ให้ผลการทดสอบเป็นสีม่วงชมพู และ Raymond's reagent ให้ผลทดสอบสีม่วงน้ำเงิน (ถนอมศรี และอ้อมบุญ, 2533; รัตนนา, 2547; Cannell, 1998; Houghton and Raman, 1998)

การย้อมผม

การย้อมผม หมายถึง การเติมสีวิทยาศาสตร์เข้าไปให้เซลล์สี (pigment) ในเส้นผม หรือเพิ่มสีให้แก่ผม จึงเรียกการย้อมผมว่า Hair coloring ดังนั้นการย้อมผมจึงเป็นทั้งวิทยาศาสตร์ และศิลปะ ในการเปลี่ยนสีผม (ศรีนวล, 2516) สำหรับการใช้ผลิตภัณฑ์ในการย้อมสีผมมีมาตั้งแต่สมัยโบราณแล้ว ไม่ว่าจะเป็นเพื่อที่จะเปลี่ยนสีผมให้สวยงาม หรือย้อมผมหงอกให้ดำขึ้นเพื่อที่จะได้ดูอ่อนกว่าวัย

นฤภา (ม.ป.ป.) ได้จำแนกสีย้อมผม โดยแบ่งตามแหล่งที่ได้มาเป็น 3 ชนิด คือ

1. สีจากพืช

1.1 เฮนนา (Henna) สีชนิดนี้ได้จากไม้พุ่มที่มีชื่อว่า *Lawsonia inermis* L. โดยใช้ใบมาตากแห้งแล้วบดเป็นผง พบว่าสารสำคัญที่ใช้ย้อมสีผมได้คือ 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone หรือเรียกว่า lawsone ซึ่งละลายได้ในน้ำร้อน และถ้าอยู่ในสารละลายที่มีสภาวะกรดใช้ย้อมผมได้ดี ส่วนใหญ่จึงใช้กรด citric หรือ adipic เป็นตัวทำละลายเพื่อให้ได้สารละลายที่มี pH ประมาณ 5.5 และใช้สีนี้ย้อมลงบนผมที่สระแล้ว โดยย้อมผมทิ้งไว้ประมาณ 50-60 นาที แล้วจึงสระออกให้หมด ข้อดีของเฮนนา คือเป็นสารที่ไม่ระคายเคืองและพบอาการแพ้้น้อยมาก ตลอดจนไม่เป็นพิษ สีที่ย้อมก็ติดอยู่ได้นานพอสมควร แต่ข้อเสียก็คือเกิดการเลอะเทอะได้ง่าย และสีที่ได้ไม่ดำแต่ออกสีน้ำตาลทอง

1.2 เฮนนาเรง (Henna Reng) สีชนิดนี้เกิดจากการนำผง indigo ซึ่งได้จากใบของต้นไม้ในสกุลคราม (*Indigofera*) มาผสมกับเฮนนา ซึ่งส่วนผสมนี้มีสีดำออกน้ำเงิน เมื่อนำส่วนผสมนี้ไปย้อมผมจะได้สีผมออกเป็นสีดำ

1.3 ชาโมไมล์ (Chamomile) เป็นพืชที่มีหลายชนิด แต่ที่นำมาใช้ย้อมผมได้มี 2 ชนิดคือ Roman Chamomile (*Anthemis nobilis*) และ German Chamomile (*Matricaria chamomilla*) ส่วนประกอบที่สำคัญคือ 1,3,4-trihydroxyflavone (apigenin) อยู่ในส่วนของดอกไม้ของพืชชนิดนี้ ซึ่งมีสีเหลือง เมื่อใช้ย้อมผมหลายๆ ครั้งจะได้ผมสีน้ำตาล

2. สีจากโลหะ

สีชนิดนี้ได้จากเกลือของโลหะชนิดต่างๆ โดยมีการใช้ย้อมผมมาตั้งแต่สมัยโบราณพอๆ กับที่มีการใช้เฮนนา ปัจจุบันส่วนใหญ่จะไม่ค่อยใช้กันแล้ว นอกจากในสีย้อมผมชนิดที่เป็นครีมทาผมทุกวันโดยผมจะค่อยๆ ดำขึ้น จากผมสีขาวเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจนเป็นสีน้ำตาลและดำในที่สุด ซึ่งยังไม่ทราบแน่ชัดว่าสีที่เกิดขึ้น เกิดจาก metallic sulphide ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของ sulfur ใน keratin กับ metallic salts หรือเป็น metallic oxides จากการที่ metallic salts ถูก reduced โดย keratin ซึ่งเป็นไปได้ว่ามีปฏิกิริยาทั้ง 2 ชนิดเกิดขึ้น ส่งผลให้มีสีเคลือบที่เส้นผม และทำให้เส้นผมเกิดการเปราะขึ้นได้ สำหรับข้อเสียของสีโลหะนี้คือ ทำให้ผิวหนังติดสีน้ำตาลด้วยเกลือ bismuth และเมื่อย้อมด้วยสีชนิดนี้แล้วจะไม่สามารถล้างออกได้ต้องปล่อยให้ยาวแล้วตัดออก

3. สีจากสารอินทรีย์สังเคราะห์

สีอินทรีย์สังเคราะห์มีการใช้มานานกว่า 40 ปีแล้ว เป็นสีชนิดที่นิยมใช้กันมากที่สุดสามารถจำแนกได้เป็น 3 แบบ คือ

3.1 สีแบบชั่วคราว (temporaly) ไม่คงทน เมื่อสระผมครั้งเดียวหลุดออกได้ เป็นสีที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เคลือบอยู่เฉพาะที่ผิวของเส้นผมไม่สามารถเข้าไปในชั้น cortex ได้ ซึ่งสีชนิดนี้ที่ใช้กันบ่อยได้แก่ “Azo” derivatives, triphenylmethane (e.g. methylviolet), Azine derivative (e.g. safranin) Thiazine derivative (e.g. methylene blue), endomines และ indophenol สีเหล่านี้อาจจะมีการจำหน่ายเป็นผงเพื่อละลายน้ำก่อนใช้อาจจะอยู่ในรูปแบบสารละลาย, conditioner ใช้หลังสระผม, แชมพูสระผมที่มีสีผสมอยู่, setting lotion หรือเป็นสเปรย์

3.2 สีแบบกึ่งถาวร (semi-permanent) พวกนี้ติดทนพอสมควร ล้างออกได้ต่อเมื่อสระผมด้วยแชมพูสระผมธรรมดา 3 - 6 ครั้ง หรือสระออกได้ง่ายด้วยแชมพูสระผมที่มี ammonia สีชนิดนี้มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำสามารถผ่านเข้าไปใน cortex และจับกับ keratin ได้ดี นอกจากนี้สีชนิดนี้อาจมีส่วนผสมของสีอื่นๆ เช่น heterocyclic azo-derivatives, derivatives ของ diazamerocyanines และ quaternary derivatives ของ amino-phenoxazinium ซึ่งมักใช้ผสมกับสีหลักๆ ดังกล่าวมาก่อนเพื่อให้มีสีหลากหลาย และสีแบบกึ่งถาวرنี้อาจจะมีจำหน่ายในรูปของ foaming lotion, conditioning หรือ foaming cream หรือเป็นแชมพูสระผมที่มีสีผสมอยู่ และชนิดที่ไม่ได้เป็นแชมพูสระผมคือ จะใช้ทาหลังจากสระผมแล้ว โดยทิ้งไว้ประมาณ 10 - 30 นาทีจึงล้างออกด้วยน้ำ

3.3 สีแบบถาวร (permanent, developed or oxidation dyes) สีชนิดนี้คงทนต่อการสระผม การแปรงผม หวีผม และแสง สารที่ใช้มักไม่มีสีแต่ต้องถูก oxidized ด้วย developer ซึ่งมักจะเป็น hydrogen peroxide สีชนิดนี้ใช้กับผมที่เปียกหลังจากสระผมใหม่ๆ และต้องล้างออกด้วยน้ำอีกครั้งหนึ่ง สีชนิดนี้ที่ใช้กันบ่อยๆ ได้แก่ nitrophenylenediamine และ nitroamino-phenols ซึ่งจะให้สีแดงตั้งแต่แดง หรือเหลืองถึงสีทองและน้ำตาลอ่อน สีน้ำตาลจะเข้มขึ้นได้จากการใช้ anthraquinones รวมด้วย (anthraquinones มีสีเหลือง – ส้ม) สีที่ใช้ในการย้อมแบบถาวรเป็นสีชนิดที่เรียกว่า oxidation dyes ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีสีในขณะที่ใช้ทาบนเส้นผม แต่จะเปลี่ยนเป็นมีสีบนเส้นผม ภายหลังจากที่มีปฏิกิริยาทางเคมี oxidation เกิดขึ้นใน pH ที่เป็นด่าง และสารที่ใช้ย้อมแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ base หรือ primary intermediate และ couplers หรือ modifiers โดยมี oxidizing agents ซึ่งมักจะเป็น hydrogen peroxide หรือถ้าเป็นของแข็ง ได้แก่ urea peroxide หรือ melamine peroxide สำหรับสีย้อมชนิดนี้อาจจะทำให้เกิดการแพ้สัมผัสได้ถึง 10% ของผู้ใช้ ดังนั้นก่อนใช้จึงควรจะต้องทดสอบดูก่อนว่าไม่เกิดการแพ้ ซึ่งเคยมีรายงานว่าสีย้อมผมในกลุ่มนี้อาจจะเป็นสารก่อมะเร็ง ในหลอดทดลอง โดยมีการทำลายของโครโมโซมเกิดขึ้น แต่จากการศึกษาในระยะหลังไม่พบว่าสีย้อมผมทำให้เกิดมะเร็งได้มากกว่าปกติ

กลไกที่ทำให้เกิดสีจากการใช้สีย้อมผมแบบถาวรนั้นเกิดจากปฏิกิริยา oxidation และ coupling reaction หลายชุด อาจจะแบ่งได้เป็น 3 ชั้น ดังนี้

1. การสร้าง quinineimines ซึ่งเกิดจาก oxidation ของด่างโดยฤทธิ์ของ hydrogen peroxide ในด่างเช่น *p*- และ *o*-aminophenols ถูก oxidized ได้ quininediimines ในทำนองเดียวกัน oxidation ของด่างตัวอื่นๆ จะได้ quinineimmonium cations

2. การสร้าง diphenylamines โดยสาร quinineimmonium cations ที่ได้จากขั้นที่ 1 จะรวมกับ couplers ได้ diphenylamines หรืออาจจะมีการรวมกับด่างเดิมที่ยังไม่ถูก oxidized ก็ได้ เช่น quinonediamine จะรวมกับ *m*-phenylenediamine (coupler) หรือ *p*-phenylenediamine (base) ได้ diphenylamine ต่างชนิดกัน

3. การเกิดสี diphenylamines ที่เกิดขึ้นจะถูก oxidized และมี condensation กับ coupler ได้เป็น indolamine, indolaniline และ indolphenol สารเหล่านี้มีปฏิกิริยา condensation ต่อไปได้เป็น polymer pigments

ศรินวล (2516) ได้จำแนกประเภทของน้ำยาย้อมผมออกเป็น 3 ประเภท คือ

1. ประเภทชั่วคราว
2. ประเภทกึ่งถาวร
3. ประเภทถาวร

โดยพบว่าสารสีที่สกัดจากพืชสมุนไพรที่จัดอยู่ในน้ำยาประเภทถาวร เช่น คราม สามารถนำมาใช้ในการย้อมผม ซึ่งสีเหล่านี้สามารถเคลือบผมบางๆ ได้

เส้นผม

พรทิพย์ (2527); สุวรรณและคณะ (2534) ให้ความหมายของผมในทางวิทยาศาสตร์ว่า ผม คือ ขนที่งอกปกคลุมหนังศีรษะของมนุษย์ ช่วยเสริมความงามแก่ใบหน้า โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

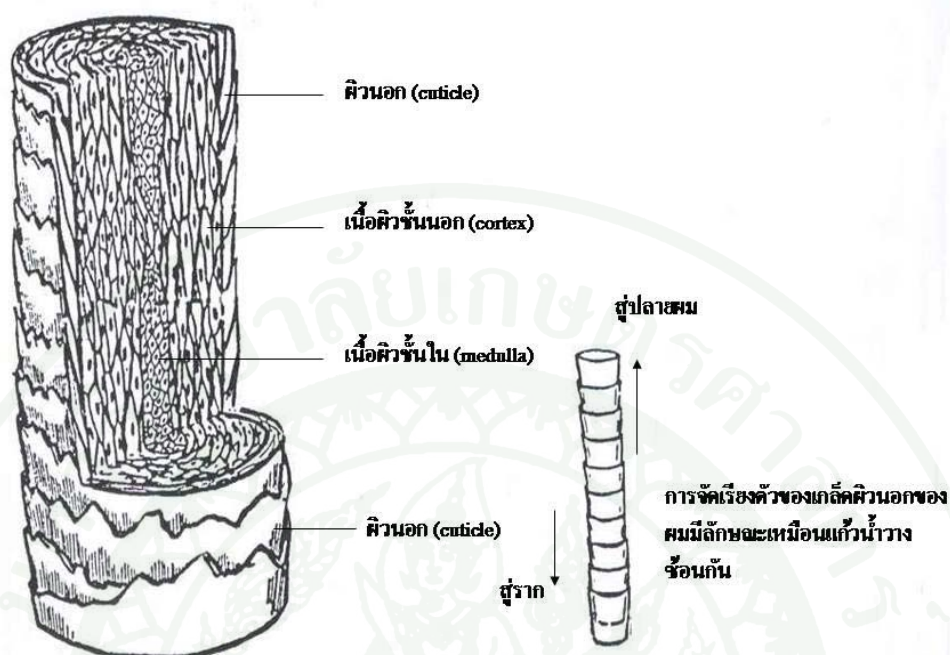
1. เส้นผม (hair shaft) คือ เป็นส่วนที่งอกเหนือหนังศีรษะ มองเห็นได้ชัดเจน และเป็น เซลล์ส่วนที่ตายแล้ว ไม่มีชีวิตและความรู้สึกเป็นส่วนที่งอกเจริญยาวออกมาปกคลุมศีรษะ ถ้านำ เส้นผมมาตัดตามขวาง สามารถแยกส่วนประกอบได้เป็น 3 ชั้น (ภาพที่ 6) คือ

1.1 ผิวนอก (cuticle) เป็นชั้นนอกสุด มีลักษณะบางใส ไม่มีสี มีเซลล์ผิว (epidermal cell) เรียงซ้อนกันแบบเกล็ดปลา เรียกว่า keratinized cell ประกอบด้วยเคราตินชนิดแข็ง (hard keratin) เป็นส่วนใหญ่ ทำให้เส้นผมมีความแข็งแรง ป้องกันชั้นในเอาไว้

1.2 เนื้อผิวชั้นนอก (cortex) เป็นชั้นที่มีความหนาที่สุด ประกอบด้วยเซลล์รูป กระสวยคล้ายเส้นใย เรียงอัดกันแน่นตามยาว ภายในเซลล์มีสารสี (pigment) เป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นตัวกำหนดสีผม และมีช่องอากาศ (air space) แทรกอยู่ ทำให้ผมมีความนุ่ม ยืดหยุ่น

1.3 เนื้อชั้นใน (medulla) เป็นชั้นในสุดของผม ประกอบด้วยเซลล์ลูกเต๋าเรียงกัน 3-4 ชั้น ภายในเซลล์มีเคราโทไฮาลิน (keratohyalin), ไขมัน และช่องว่างซึ่งมีอากาศแทรกอยู่ เส้นผม ของคนทั่วไปซึ่งเป็นเส้นผมที่แข็งแรง เกิดจากชั้นในนี้มี mucelated cell เรียงกันแน่น และค่อยๆ ร่น มาทางปลายผม ซึ่งมีจำนวนเซลล์ลดลง แต่เส้นผมของทารกที่เรียกว่า ผมไฟ (lanugo) นั้นไม่มีชั้น ของเนื้อชั้นในนี้ จึงมีลักษณะอ่อนนุ่มและบางละเอียด

2. รากผม (hair root) เป็นส่วนที่ฝังตัวอยู่ในเนื้อเยื่อของหนังศีรษะ ซึ่งมีรูปร่างเหมือน หลอดปากแควเรียกว่า ต่อมรากผม (hair follicle)



ภาพที่ 6 แสดงภาพเส้นผมนานาขยายเมื่อผ่าตามขวางและตามยาว

ที่มา: Goodman (1950)

การพัฒนาสีย้อมผมจากพืช

มาลินี และลาวัณย์ (2529) ศึกษาการพัฒนาการย้อมผมด้วยสมุนไพร โดยใช้สารสกัดเทียนกิ่งที่สกัดด้วยน้ำและด่าง พบว่าสีมีความคงตัวดีในสภาวะที่เป็นด่าง (pH มากกว่าหรือเท่ากับ 8) นำสารสกัดจากใบครามมาปรับความเข้มข้นของสี และพบว่าสารสกัดจากใบเทียนบ้านที่สกัดด้วยน้ำสามารถย้อมติดสีผมได้เช่นเดียวกับสารสกัดจากใบเทียนกิ่ง

มณวรัตน์ และมัลลิกา (2539) ศึกษาการพัฒนาการย้อมผมด้วยสมุนไพร โดยใช้สีจากดอกอัญชันผสมกับสีจากเทียนกิ่ง ซึ่งได้จากการสกัดด้วยน้ำ ในอัตราส่วน 10 : 1 ผสมกับ gel base สำหรับผมที่ใช้ในการทดลองเตรียมได้จากการนำผมสีดำมามัดเป็นมัดๆ แล้วนำไปแช่ด้วย H_2O_2 50% เป็นเวลา 10 ชั่วโมง เมื่อนำผมที่เตรียมได้ไปย้อมด้วยสารสกัดจากพืช พบว่าความเข้มของสีผม

เข้มข้นเมื่อเปอร์เซ็นต์สีเพิ่มขึ้น การย้อมผม 2 ชั่วโมงมีความเข้มของสีไม่ต่างกับการย้อมผม 4 ชั่วโมง และพบว่า การย้อมผมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ของอัตราส่วนของสีจากดอกอัญชันกับสีจากเทียนกิ่ง 10 : 6 ที่ความเข้มข้น 26.8% ย้อมผมได้สีเข้มกว่าผมที่ย้อมด้วยสีและความเข้มข้นเดียวกัน แต่อัตราส่วนของสีเป็น 10 : 1 สำหรับอัตราส่วนของสีจากดอกอัญชันกับสีจากเทียนกิ่ง 10 : 6 ที่ 40% สีผมที่ย้อมได้เป็นสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ และสำหรับการติดทนของสีที่ย้อม พบว่าสีของผมที่ย้อมเปลี่ยนเป็นสีที่ใกล้เคียงกับสีที่ใช้ในการทดลองเมื่อทำการสระด้วยยาสระผมทั้งหมด 6 ครั้ง

อุไรวรรณ และคณะ (2544) ศึกษาการติดสีผมของสารสกัดจากใบเทียนกิ่ง (*Lawsonia inermis*) โดยนำใบเทียนกิ่งแห้งมาสกัดเย็นและร้อนด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ และนำสารสกัดหยาบทั้งหมดที่ได้มาทดสอบการติดสีผมขาวในระยะเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากสกัดร้อนและเย็นด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอล ให้เปอร์เซ็นต์การติดสีดีที่สุดแต่ยังติดน้อยกว่าน้ำคั้นใบสด

ระบบการวัดสี

การระบุลักษณะสีที่มนุษย์เรามองเห็นนั้นมีความหลากหลายขึ้นอยู่กับประสบการณ์ เพศ อายุ อารมณ์ และสิ่งแวดล้อม ในการมอง เป็นต้น ซึ่งผลทำให้ไม่สามารถสื่อความหมายของสีให้เข้าใจตรงกันได้ในระดับสากล ดังนั้นเพื่อให้ผู้ใช้สีสามารถสื่อสารแล้วเข้าใจความหมายของสีได้ตรงกัน จึงมีการกำหนดค่าสีเป็นปริมาณที่วัดได้เพื่อนำไปประเมินเป็นค่าตัวเลขที่แน่นอน ระบบการวัดสีที่นิยมกันอย่างกว้างขวาง มี 2 ระบบ คือระบบ Munsell และระบบ CIE (ส่วนอุตสาหกรรมสิ่งทอ, 2542)

1. ระบบ Munsell เป็นระบบพื้นฐานในการจัดลำดับสีที่ง่ายโดยอาศัยคุณสมบัติการมองเห็นสี 3 ประการ คือ

1.1 Hue คือสีที่ปรากฏให้เห็นจำนวน 10 สี คือ สีแดง (R) สีแดงออกเหลือง (YR) สีเหลือง (Y) สีเหลืองออกเขียว (GY) สีเขียว (G) สีเขียวออกน้ำเงิน (BG) สีน้ำเงิน (B) สีน้ำเงินออกม่วง (PB) สีม่วง (P) สีม่วงออกแดง (RP)

1.2 Value คือ ค่าตัวเลขที่บอกความสว่างของสี จะมีค่า 1-10 ตัวเลขต่ำจะหมายถึงสีคล้ำ (dark) และจะต่ำลงไปจนถึงสีดำ (0/) ตัวเลขสูงบอกถึงสีอ่อน (lighter) ขึ้นไปจนถึงสีขาว (10/) สีที่มีค่า value เหมือนกันจะมีค่าการสะท้อนแสง (reflectance) เหมือนกัน

1.3 Chroma คือ ค่าความเข้ม ความบริสุทธิ์ของสี chroma จะมีค่าตั้งแต่ 0 จนถึง 12 หรือ 14 ทั้งนี้ขึ้นกับค่า value คงที่หนึ่งๆ

ระบบ Munsell จะสามารถสื่อความหมายของสีได้ดี แต่ก็ยังมีข้อบกพร่องเนื่องจากการบอกลักษณะของสี หรือจัดลำดับของสียังคงใช้ประสบการณ์ของผู้มองแต่ละคน ดังนั้นจึงอาจทำให้มีการบอกลักษณะของสีแตกต่างกันได้

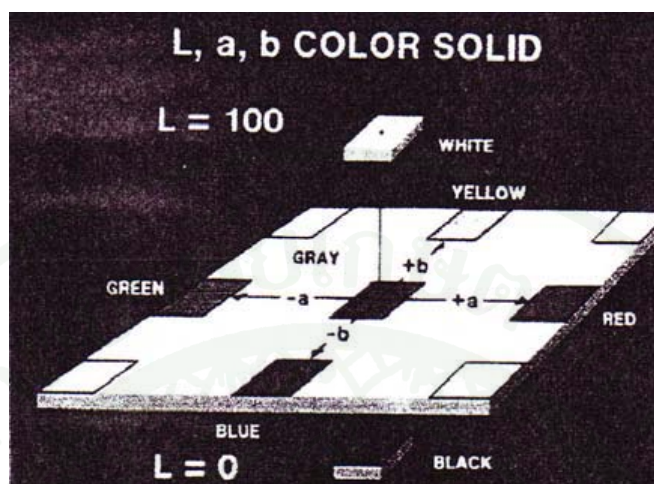
2 ระบบ CIE (CIELAB) เป็นระบบการวัดสีที่คำนึงถึงองค์ประกอบ 3 ประการ คือ

2.1 Light source คือ แหล่งกำเนิดแสงมาตรฐาน

2.2 Colour object คือ วัตถุมีสี เมื่อแสงตกกระทบจะสะท้อนหรือกระจายแสงมาสู่ตา หรือ เครื่องรับแสง

2.3 Observer คือ ผู้สังเกตการณ์

CIE $L^*a^*b^*$ (CIELAB) เป็นระบบการวัดสีที่พัฒนาจากระบบ CIE tristimulus values (x , y และ z) และ CIE chromaticity coordinates (x , y และ z) โดยปรับปรุงและเปลี่ยนแปลงจนสามารถบอกความแตกต่างของสีได้อย่างสม่ำเสมอ ปัจจุบันสมการที่ใช้ในการระบุสีเป็นที่ยอมรับกว้างขวาง คือ CIELAB 1976 ซึ่งมีลักษณะของ color space ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 CIELAB 1976 แสดง CIE $L^*a^*b^*$ color space

ที่มา: ส่วนอุตสาหกรรมสิ่งทอ (2542)

L^* ใช้กำหนดค่าความสว่าง (lightness) ของสี

- ถ้า L^* มีค่าเท่ากับ 0 หมายถึง วัตถุสีดำ
- ถ้า L^* มีค่าเท่ากับ 100 หมายถึง วัตถุมีสีขาว

a^* ใช้กำหนดความเป็นสีแดงหรือสีเขียว (red – green)

- ถ้า a^* มีค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีความเป็นสีแดง
- ถ้า a^* มีค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีความเป็นสีเขียว
- ถ้า a^* มีค่าเป็น 0 หมายถึง วัตถุมีสีเทา

b^* ใช้กำหนดความเป็นสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน (yellow – blue)

- ถ้า b^* มีค่าเป็นบวก หมายถึง วัตถุมีความเป็นสีเหลือง
- ถ้า b^* มีค่าเป็นลบ หมายถึง วัตถุมีความเป็นสีน้ำเงิน
- ถ้า b^* มีค่าเป็น 0 หมายถึง วัตถุมีสีเทา

นอกจากนี้ในระบบ CIELAB ได้เชื่อมค่า a^* และค่า b^* เข้ากับ hue และ chroma โดยกำหนดค่าสีอีก 2 ค่า คือ hue angle (h°) และ chroma (C^*)

Hue angle เป็นตัวเลขที่ระบุว่า สีอยู่ในตำแหน่งใดใน color space มีหน่วยเป็น องศา

- ถ้า h° มีค่าเท่ากับ 0 องศา (360 องศา) แสดงว่าเป็นสีแดง
- ถ้า h° มีค่าเท่ากับ 90 องศา แสดงว่าเป็นสีเหลือง
- ถ้า h° มีค่าเท่ากับ 180 องศา แสดงว่าเป็นสีเขียว
- ถ้า h° มีค่าเท่ากับ 270 องศา แสดงว่าเป็นสีน้ำเงิน

ส่วน Chroma คือ ค่าความสดสีของสีที่มีความสว่างหนึ่งๆ โดย $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$
 Chroma จะได้จากความยาวของเส้นตรงจากจุดกำเนิดที่ $a^* = b^* = 0$ ไปยังตำแหน่งของตัวอย่าง C^* จะใช้บอกค่าความสดสีของสีที่มีความสว่างหนึ่งๆ

โดยทั่วไปในการระบุสีของวัตถุในระบบ CIELAB นั้นมักจะระบุด้วยค่า L^* C^* และ h° มากกว่า L^* a^* b^* เนื่องจากจะทำให้ความเข้าใจและทราบลักษณะของสีได้ใกล้เคียงกับที่ตามนุษย์มองเห็นสี

อุปกรณ์และวิธีการ

1. พืชที่นำมาวิจัย

กะเม็งที่เก็บมาจากบริเวณแปลงนาและสวน อ.บางปลาหม้อ จ.สุพรรณบุรี บริเวณแปลงนา อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม และบริเวณรอบๆ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ระหว่างเดือนพฤษภาคม 2550 ถึง เดือนพฤษภาคม 2553

2. การวิเคราะห์ทางพฤกษเคมี

2.1 การสกัด

2.1.1 การสกัดวิธีที่ 1 กะเม็งทุกส่วน (ราก ลำต้น ใบ) นำมาผึ่งในที่ร่มจนแห้งสนิทชั่งน้ำหนักได้ 800 กรัม บดละเอียด แช่ใน methanol เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน กรองและทำให้แห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporater, Buchi R114) นำสารสกัดใน methanol ที่ได้มาแยกเป็นส่วนที่ละลายใน dichloromethane (lipophilic extract) และส่วนที่ละลายในน้ำ (hydrophilic extract) ส่วนที่ละลายใน dichloromethane นำมากลั่นระเหยจนแห้งสนิทละลายใน methanol ได้ปริมาณ 150 กรัม เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการวิเคราะห์และแยกสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography และ Middle pressure chromatography (MPLC) ดังแสดงในภาพที่ 8

2.1.2 การสกัดวิธีที่ 2 กะเม็งทุกส่วน (ราก ลำต้น ใบ) นำมาผึ่งในที่ร่มจนแห้งสนิทชั่งน้ำหนักได้ 850 กรัม บดละเอียด แช่ใน methanol เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน กรองและทำให้แห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporater, Buchi R114) นำสารสกัดใน methanol ปริมาณ 50 กรัม นำมาละลายน้ำ กรองแยกตะกอนออก นำสารละลายมาสกัดแยกด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่างๆ จากสภาพที่มีขั้วต่ำไปหาสภาพที่มีขั้วสูง ได้แก่ dichloromethane (0.489 กรัม), ethyl acetate (2.5 กรัม) และ butanol (30 กรัม) ตามลำดับ สารสกัดในตัวทำละลายที่ได้ทั้งหมดนี้ นำมาละลายด้วย methanol เก็บไว้ในที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการวิเคราะห์และแยกสารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค column chromatography ดังแสดงในภาพที่ 9

2.2 การแยกสารสกัด (preparative separation of the extracts)

ใช้เทคนิคต่างๆ ดังนี้

Thin Layer Chromatography (TLC)

เทคนิคที่ใช้:	one way, ascending
ตัวดูดซับ (adsorbent):	silica gel 60, F-254 (Merck), aluminium sheath ความหนา 0.25 มิลลิเมตร
ขนาดแผ่น TLC:	20 x 20 เซนติเมตร
ระยะทาง:	15 เซนติเมตร
ระบบตัวทำละลาย (solvent system):	Dichloromethane : ethyl acetate : methanol = 9 : 0.5 : 0.5 Toluene : acetone : formic acid = 11 : 6 : 1

Column Chromatography (CC)

Dry Column Chromatography

ชนิดและขนาดของคอลัมน์:	คอลัมน์แก้วขนาด 1.8 x 120 เซนติเมตร
ตัวดูดซับ:	Silica gel 60 size 0.2-0.5 mm (35-70 mesh, Merck)
ระบบตัวทำละลาย:	สารละลายผสมระหว่าง 1. Hexane : Diethyl ether : Methanol (ตารางที่ 5) 2. Ethyl acetate : Hexane และ Dichloromethane : Methanol : H ₂ O (ตารางที่ 6)

ปริมาตรของสารละลายที่รองรับหลังจากแยกออกมาในแต่ละระบบตัวทำละลายระบบละ 100 มิลลิลิตร (แยกออกเป็น 2 ขวด ขวดละ 50 มิลลิลิตร) ตามลำดับ รวมสารละลายที่รองรับหลังจากการตรวจได้แสง UV จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC

ตารางที่ 5 ระบบสารละลายอินทรีย์ผสมที่ใช้แยกสารสกัดส่วน dichloromethane

Solvent system	Hexane	Diethyl ether	Methanol
1	95	5	-
2	90	10	-
3	75	25	-
4	50	50	-
5	-	100	-
6	-	75	25
7	-	50	50
8	-	25	75
9	-	5	95
10	-	-	100

ตารางที่ 6 ระบบสารละลายอินทรีย์ผสมที่ใช้แยกสารสกัดส่วน ethyl acetate

Solvent system	Ethyl acetate	Hexane	-
1	20	80	-
2	40	60	-
3	60	40	-
4	80	20	-
5	100	0	-
	Dichloromethane	Methanol	Distilled water
6	20	3	1
7	10	3	1
8	7	3	1
9	6.5	3	1
10	0	7	3

Quick Column Chromatography

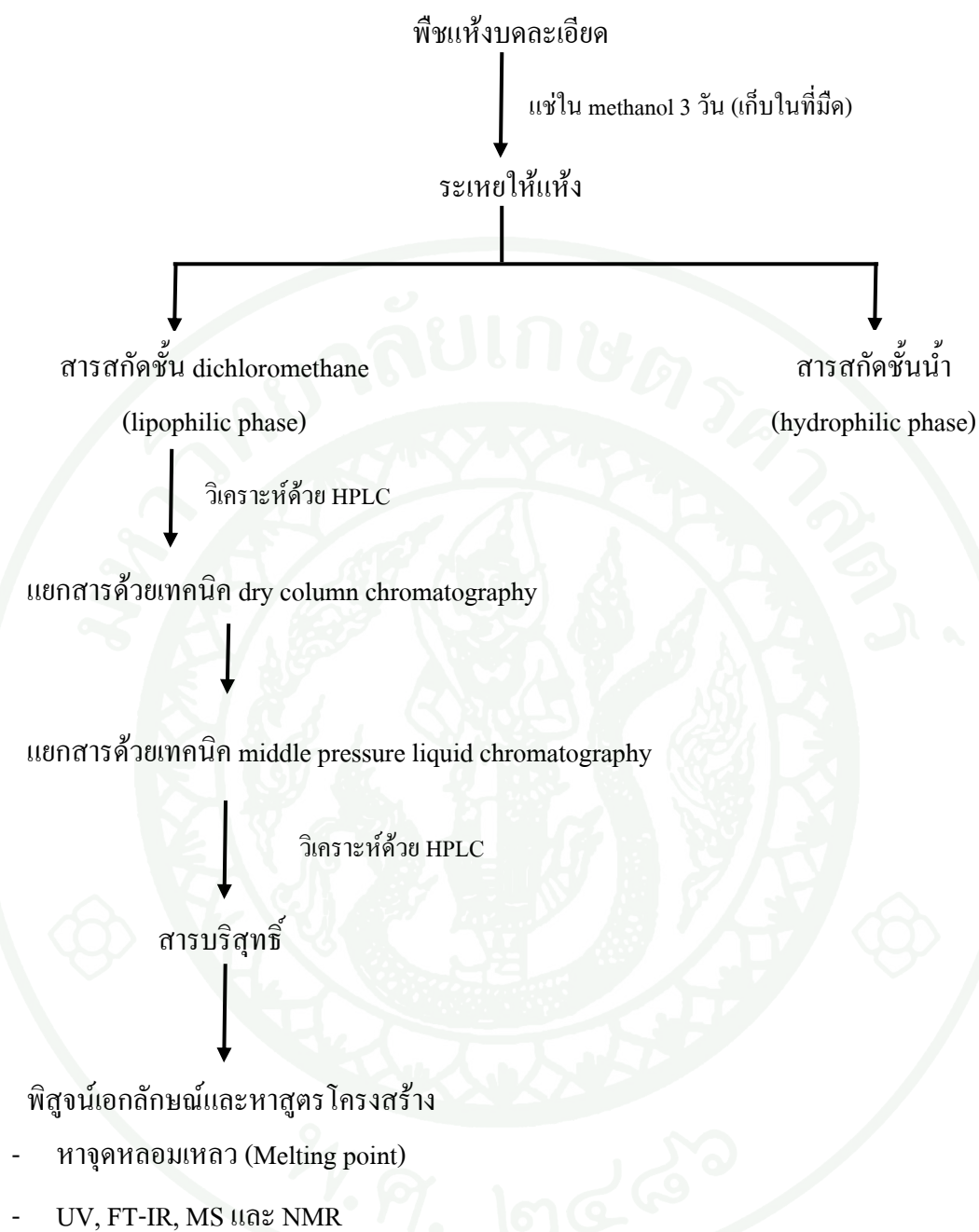
ชนิดและขนาดของคอลัมน์:	คอลัมน์แก้วขนาด 8 x 6.5 เซนติเมตร
ตัวดูดซับ:	Silica gel 60 H (Merck)
ระบบตัวทำละลาย:	สารละลายผสมระหว่าง Ethyl acetate : Methanol = 5 : 1

Middle Pressure Chromatography (MPLC)

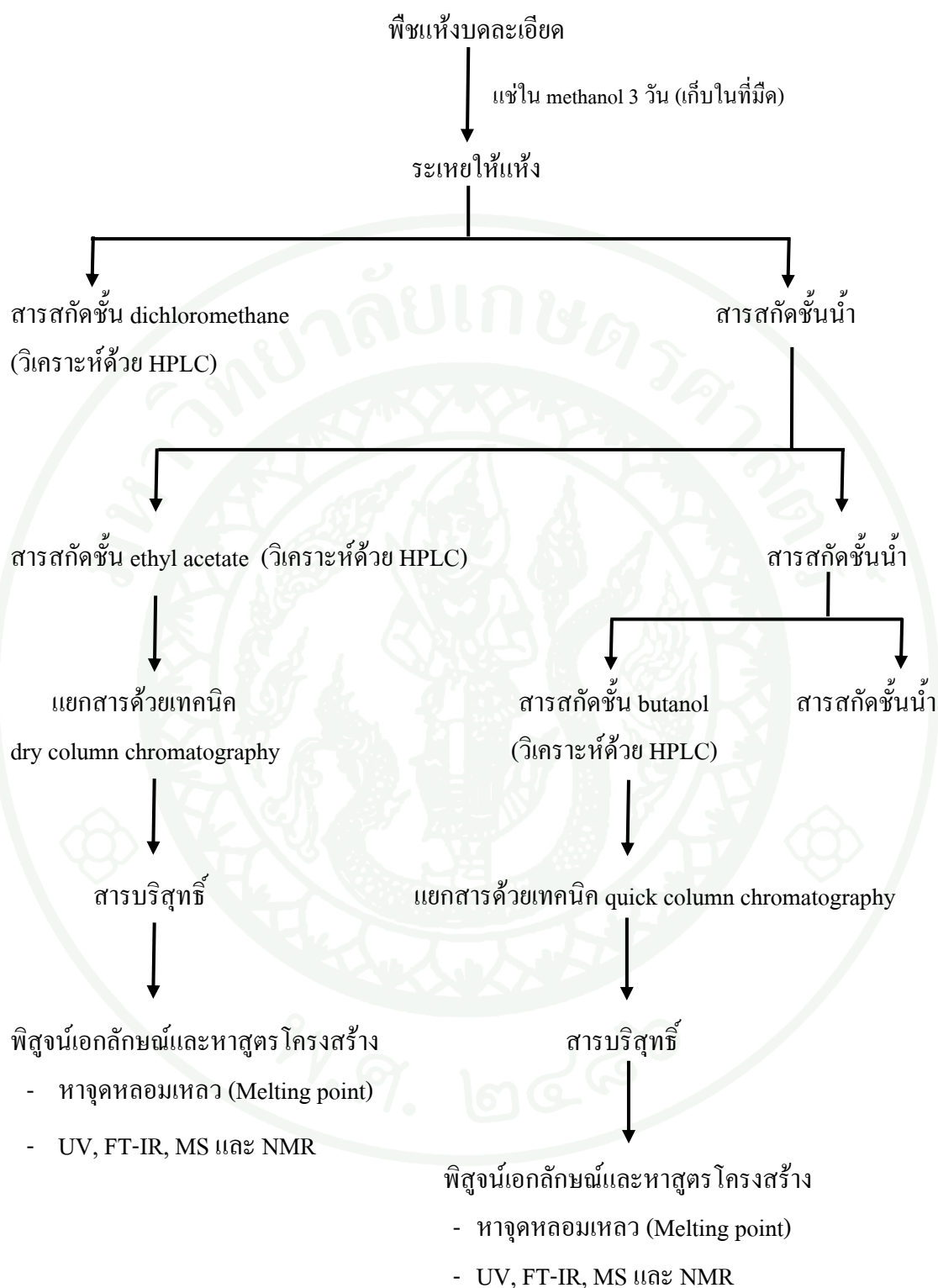
สารที่แยกได้จาก Dry Column Chromatography นำมาแยกต่อเพื่อให้ได้สารบริสุทธิ์โดยใช้ MPLC

ปั๊ม	pump model QD-1 ssy (1-10 bar) Fluid Metering, Inc. or a chromatographic pump from Buchi
ระบบตัวทำละลาย	5 % ethyl acetate in hexane 10 % ethyl acetate in hexane 15 % ethyl acetate in hexane 30 % ethyl acetate in hexane 50 % ethyl acetate in hexane 70 % ethyl acetate in hexane

อัตราเร็วของการไหล	30 มิลลิลิตรต่อนาที
คอลัมน์	คอลัมน์แก้วขนาด 400 x 40 มิลลิเมตร
ตัวดูดซับ	Merck LiChroprep Silica gel 60, 25-40 ไมโครเมตร
การตรวจวัด	UV-detector UA-5 ISCO, ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร



ภาพที่ 8 แผนผังแสดงการสกัดแยกสารให้บริสุทธิ์ตามการสกัดวิธีที่ 1



ภาพที่ 9 แผนผังแสดงการสกัดแยกสารให้บริสุทธิ์ตามการสกัดวิธีที่ 2

2.3 การวิเคราะห์ทางพฤกษเคมีเบื้องต้นด้วยเทคนิค TLC ของสารสกัดจาก dichloromethane, ethyl acetate และ butanol ด้วยสาร reagent ดังนี้

- ก การตรวจสอบการเรืองแสงภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 365 นาโนเมตร
- ข การตรวจสอบกลุ่ม coumarin ฟ้นด้วย 10 % NaOH และตรวจสอบการเรืองแสงภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร
- ค การตรวจสอบกลุ่ม steroid-terpenoid ฟ้นด้วย anisaldehyde sulfuric acid reagent
- ง การตรวจสอบกลุ่ม unsaturated lactone ring ฟ้นด้วย Kedde's reagent และ Raymond's reagent
- จ การตรวจสอบกลุ่ม alkaloid ฟ้นด้วย Dragendorff's reagent
- ฉ การตรวจสอบกลุ่ม iridoid ฟ้นด้วย Wieffering reagent

2.4 การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

2.4.1 การวิเคราะห์สารสำคัญในส่วน Dichloromethane

เครื่องมือ Variance Star # 1 ที่ต่อร่วมกับ ultraviolet (UV) photodiode array detector

คอลัมน์ และตัวดูดซับ reverse phase C₁₈: 250 x 4.6 mm
ChromSpher 5 Part number CP 29358

ตัวอย่าง สารสกัดหยาบ 10 มิลลิกรัม และสารบริสุทธิ์ 1 มิลลิกรัม ละลายใน methanol 1 มิลลิลิตร

ระบบตัวทำละลาย 0.1 N Ortho-phosphoric acid (AR grade Merck) ใน acetonitrile (HPLC grade) และ 0.1 N Ortho-phosphoric acid (AR grade; Merck) ในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน (DI water)
จาก Wagner *et al.* (1986) และ Prakash *et al.* (2008)

เฟสเคลื่อนที่

ระยะเวลา (นาที)	ACN (vol%)	DI water (vol%)
0.00	30	70
30.00	80	20

การตรวจวัด

UV photodiode array detector
ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

อัตราเร็วของการไหล

1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

ปริมาณสารสกัดที่ใช้วิเคราะห์

20 ไมโครลิตร

ระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจสอบ

30 นาที

2.4.2 การวิเคราะห์สารสำคัญในส่วน Ethyl acetate

เครื่องมือ

Agilent 1100 Series ที่ต่อร่วมกับ ultraviolet
(UV) photodiode array detector

คอลัมน์ และตัวดูดซับ

reverse phase C₁₈: 250 x 4.6 mm
ChromSpher 5 Part number CP 29358

ตัวอย่าง

สารสกัดหยาบ 10 มิลลิกรัม และสารบริสุทธิ์
1 มิลลิกรัม ละลายใน methanol 1 มิลลิลิตร

ระบบตัวทำละลาย

0.1 N Ortho-phosphoric acid (AR grade Merck)
ใน acetonitrile (HPLC grade) และ 0.1 N Ortho-
phosphoric acid (AR grade; Merck) ในน้ำกลั่น
ที่ปราศจากไอออน (DI water)
จาก Wagner *et al.* (1986) และ Prakash *et al.* (2008)

เฟสเคลื่อนที่

ระยะเวลา (นาที)	ACN (vol%)	DI water (vol%)
0.00	15	85
30.00	60	40

การตรวจวัด

UV photodiode array detector

ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร

อัตราเร็วของการไหล

1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

ปริมาณสารสกัดที่ใช้วิเคราะห์

20 ไมโครลิตร

ระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจสอบ

30 นาที

2.5 การทำสารสำคัญที่แยกได้ให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการตกผลึกซ้ำ (recrystallization)

ใน dichloromethane : methanol = 2 : 1

2.6 การหาค่าเฉพาะทางกายภาพ

ได้แก่ การหาค่าจุดหลอมเหลวของสารบริสุทธิ์ด้วยเครื่อง Melting point apparatus; Fisher Scientific Company Serial 4017 ที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

2.7 วิธีทาง Spectroscopy เพื่อวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารบริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดกะเม็ง

2.7.1 UV- Spectroscopy จากเครื่อง HPLC (Agilent 1100 Series) ที่ต่อร่วมกับ UV photodiode array (Agilent, 1100 series diode array detector SL (DAD SL)) ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

2.7.2 FT-IR Spectroscopy จากเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR), Nicolet IR 200 ที่หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีโพลิเมอร์และเส้นใยย่อยสลายได้จากธรรมชาติ สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

2.7.3 NMR-spectroscopy จากเครื่อง Varian INOVA 400 NMR Spectrometer โดยวิเคราะห์ ^1H , ^{13}C NMR และ DEPT ที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

2.7.4 Mass spectroscopy จากเครื่อง Liquid Chromatography Mass Spectroscopic (LCMS), Burkert Daltonics micro TOF 72 ที่ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

3. การทดสอบการย่อยผสม

3.1 การเตรียมเส้นผสม

3.1.1 เส้นผสมชาธรรมชาติ ซื้อมาจากตลาดประตุน้ำ

3.1.2 เส้นผสมชาจากการฟอกสี ซื้อมาจากตลาดประตุน้ำ

นำเส้นผสมชาธรรมชาติ และเส้นผสมชาจากการฟอกสี มาทำเป็นมัด แต่ละมัดหนัก 2 กรัม ยาวมัดละ 4 เซนติเมตร ให้ได้เป็นเส้นผสมชาธรรมชาติและผสมชาจากการฟอกสี อย่างละ 15 มัด เส้นผสมทั้งหมดนำมาทำความสะอาดด้วยแชมพู และซักให้แห้งก่อนทำการย้อมสี

3.2 การย้อมเส้นผสม

ย้อมเส้นผสมที่เตรียมไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (อ้างอิง อุไรวรรณ และคณะ, 2549) ในสีย้อมที่ได้จากสารสกัดกะเม็ง โดยย้อมเส้นผสมชาในสีย้อม 2 วิธี ดังต่อไปนี้

3.2.1 นำเส้นผมขาวทั้ง 2 แบบ (3.1.1 และ 3.2.2) มาข้อมในสีข้อม 3 ชนิด ที่ได้จากการละลายสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane, methanol และ น้ำ โดยสารสกัดเหล่านี้ละลายในน้ำที่ความเข้มข้นเป็นร้อยละ 20 วัดค่าความเป็นกรด ต่างของสารละลายเหล่านี้

3.2.2 นำเส้นผมขาวทั้ง 2 แบบ (3.1.1 และ 3.2.2) มาข้อมในสีข้อมที่ประกอบด้วย 10,000 ppm ของ $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ในน้ำ และ 20% ของสารสกัดกะเม็งด้วย methanol วัดค่าความเป็นกรด ต่างของสารละลาย

3.3 การวัดค่าการติดสีของเส้นผมด้วยสารสกัดจากกะเม็ง

นำเส้นผมที่ได้จากการข้อมในข้อ 3.2.1 และ 3.2.2 เปรียบเทียบกับเส้นผมที่ไม่ผ่านการข้อม โดยวัดค่าการติดสีผมด้วยเครื่อง Colour difference meter (Konica Minolta Chroma meter CR-400 (Japan)) โปรแกรม CR ที่ศูนย์เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน และบันทึกผลการทดลอง โดยใช้ค่า L^* , a^* , b^* , C^* และ h°

ค่า L^* วัดความมืดความสว่างของสี มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 โดยค่า 0 หมายถึง ความเป็นสีดำ (มืด) ค่า 100 หมายถึง ความเป็นสีขาว (สว่าง)

ค่า a^* วัดความเป็นสีแดงเมื่อมีค่าเป็นบวก วัดความเป็นสีเขียวเมื่อมีค่าเป็นลบและความเป็นสีเทาเมื่อมีค่าศูนย์

ค่า b^* วัดความเป็นสีเหลืองเมื่อมีค่าเป็นบวก วัดความเป็นสีน้ำเงินเมื่อมีค่าเป็นลบและความเป็นสีเทาเมื่อมีค่าศูนย์

ค่า C^* (metric chroma) เป็นค่าที่บอกถึงความสดใสของสี สีที่มีความสดใสมากกว่าก็จะมีค่า C^* สูง

ค่า h° (metric hue angle) เป็นค่าที่ระบุตำแหน่งของสีวัดดู

ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design วัดเทียบกับเส้นผมขาวที่ไม่ได้ ย้อมทั้งที่เป็นผมขาวธรรมชาติและผมขาวจากการฟอกสี โดยในการย้อมสีผมทำการย้อม 3 ชั่วโมง และ วัดค่าสีซ้ำละ 3 ครั้ง

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาผลของการย้อมเส้นผมทั้ง 2 ชนิดด้วยสารสกัดที่แตกต่างกัน 4 ชนิดได้ทำการ วิเคราะห์ข้อมูล จากการประเมินค่าสีและความแตกต่างของสีโดยใช้ค่าเฉลี่ย L^* , a^* , b^* , C^* , h° ของ เส้นผมทดลอง (เมื่อเปรียบเทียบกับสีของเส้นผมชุดควบคุม) โดยใช้ Analysis of Variance และ ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการวิจัยพฤษเคมีเปรียบเทียบและพฤษเคมีเชิงนิเวศ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีสมุนไพรและความหลากหลายทางชีวภาพ ฝ่ายเทคโนโลยีชีวมวล
และพลังงานชีวภาพ สถาบันคั่นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์กลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ศูนย์เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน

ระยะเวลาทำการทดลอง

การทดลองเริ่มตั้งแต่เดือน มกราคม 2549 สิ้นสุดการทดลองเดือนพฤศจิกายน 2553

ผลและวิจารณ์

ผล

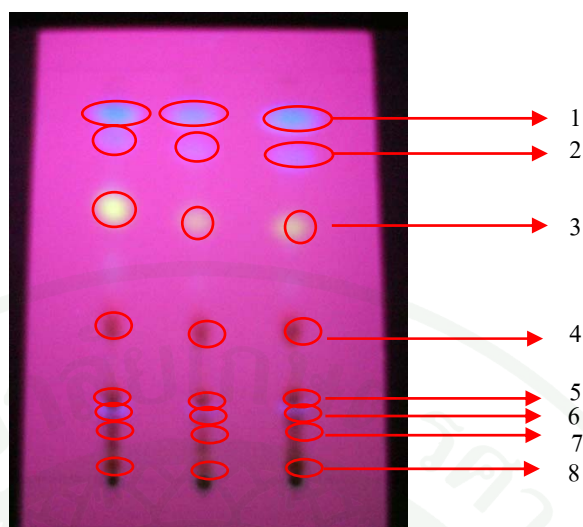
1. การวิเคราะห์เบื้องต้นทางพฤกษเคมีด้วยเทคนิค TLC

1.1 การวิเคราะห์รูปแบบของสารเคมีในสารสกัดด้วย dichloromethane จากกะเม็งในแหล่งต่างๆ

การเปรียบเทียบปริมาณของสารสกัดกะเม็งที่นำมาจาก 3 แหล่งคือ กรุงเทพฯ, สุพรรณบุรี และนครปฐม ด้วย methanol พบว่าทั้ง 3 แหล่งให้ปริมาณผลผลิตที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 7 และเมื่อนำสารสกัดด้วย dichloromethane (วิธีที่ 2.1.1) จากกะเม็งทั้ง 3 แหล่งมาตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC ใช้วิธี colour detection พบว่ากะเม็งที่นำมาจากทั้ง 3 แหล่งมีรูปแบบทางเคมี (chemical patterns) ที่เหมือนกันโดยแสดงจุดทึบแสงเมื่อตรวจสอบภายใต้แสง UV ที่มีความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร และเมื่อตรวจสอบการเรืองแสง UV ที่มีความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร พบการเรืองแสงสีแดง เขียว และม่วง ดังภาพที่ 10 โดยที่ระยะต่างๆ คำนวณค่า R_f ดังแสดงในตารางที่ 8 ซึ่งจากผลการตรวจสอบเบื้องต้นนี้จึงสามารถนำสารสกัดกะเม็งด้วย methanol จากทั้ง 3 แหล่งมารวมกันได้เพื่อนำมาใช้ในการแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ต่อไป

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบผลการสกัดกะเม็งด้วย methanol จากแหล่งต่างๆ

แหล่ง	น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)	น้ำหนักสารสกัดด้วย methanol	
		(กรัม)	เปอร์เซ็นต์ผลผลิต
กรุงเทพฯ	500	63.6640	12.7328
สุพรรณบุรี	330	62.4338	18.9193
นครปฐม	180	44.1028	24.5015



กรุงเทพ สุพรรณบุรี นครปฐม

ภาพที่ 10 เปรียบเทียบรูปแบบทางเคมีของสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane ของกะเม็งจาก 3 แหล่ง ภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 365 nm

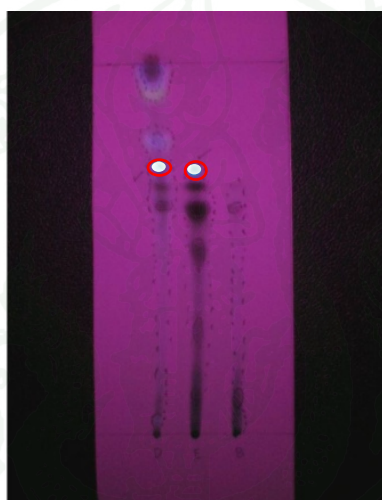
ตารางที่ 8 แสดงค่า R_f ของการเรียงแสงของสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane

ลำดับ	R_f values	ลักษณะการเรียงแสง
1	0.831	สีม่วง/ฟ้า
2	0.692	สีม่วง/ฟ้า
3	0.508	สีเขียว
4	0.500	สีแดง
5	0.354	สีแดง
6	0.362	สีม่วง
7	0.154	สีแดง / ทึบแสง
8	0.123	ทึบแสง

1.2 การวิเคราะห์กลุ่มสารเคมีในกะเม็ง

1.2.1 การตรวจสอบสารกลุ่ม coumarin

จากการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC โดยให้สารทำปฏิกิริยากับด่าง ตรวจสอบภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 365 nm พบว่าสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane, ethyl acetate และ butanol ให้ผลการทดสอบที่เป็นบวก คือ เรืองแสงสีฟ้าอมเขียว แต่มีลักษณะที่จางมาก ดังแสดงในภาพที่ 11



CH₂Cl₂ EtOAc BuOH

ภาพที่ 11 ผลการตรวจสอบสารกลุ่ม coumarin ของสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane, ethyl acetate และ butanol

1.2.2 การตรวจสอบสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid

จากการตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC ฟ่นด้วยสารละลาย Anisaldehyde - sulfuric acid นำไปอบที่อุณหภูมิ 110 °C ปรากฏจุดสีน้ำเงิน สีเขียว สีชมพู และสีเทา แสดงผลของสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid ในสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane ดังแสดงในภาพที่ 12 ส่วนการทดสอบสารสกัดด้วย ethyl acetate และ butanol ให้ผลการทดสอบเป็นลบคือ ไม่พบสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid



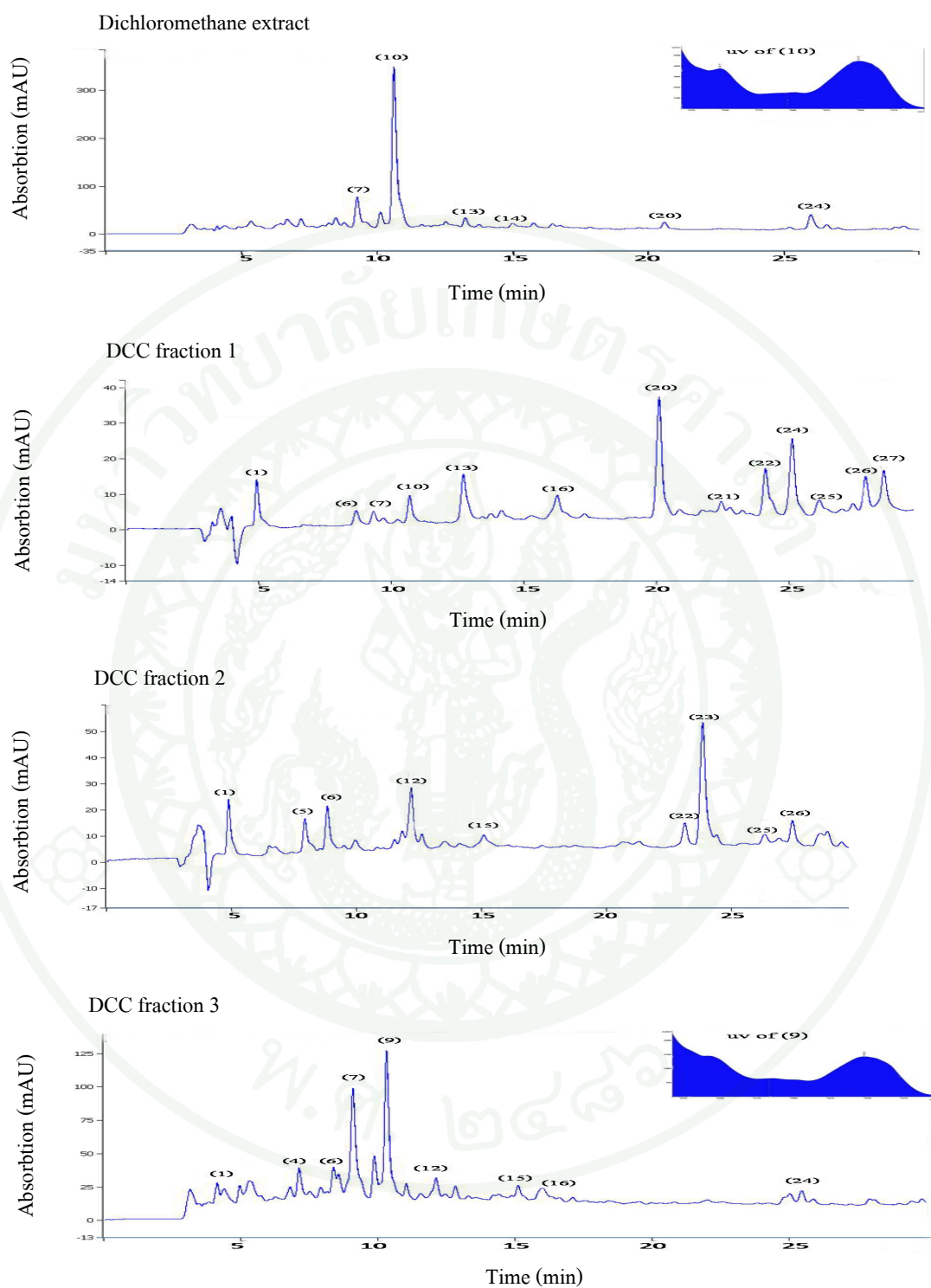
ภาพที่ 12 การตรวจสอบสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid ของสารสกัดส่วน dichloromethane ด้วย Anisaldehyde - sulfuric acid

2. การสกัดแยกสารและการทำสารให้บริสุทธิ์

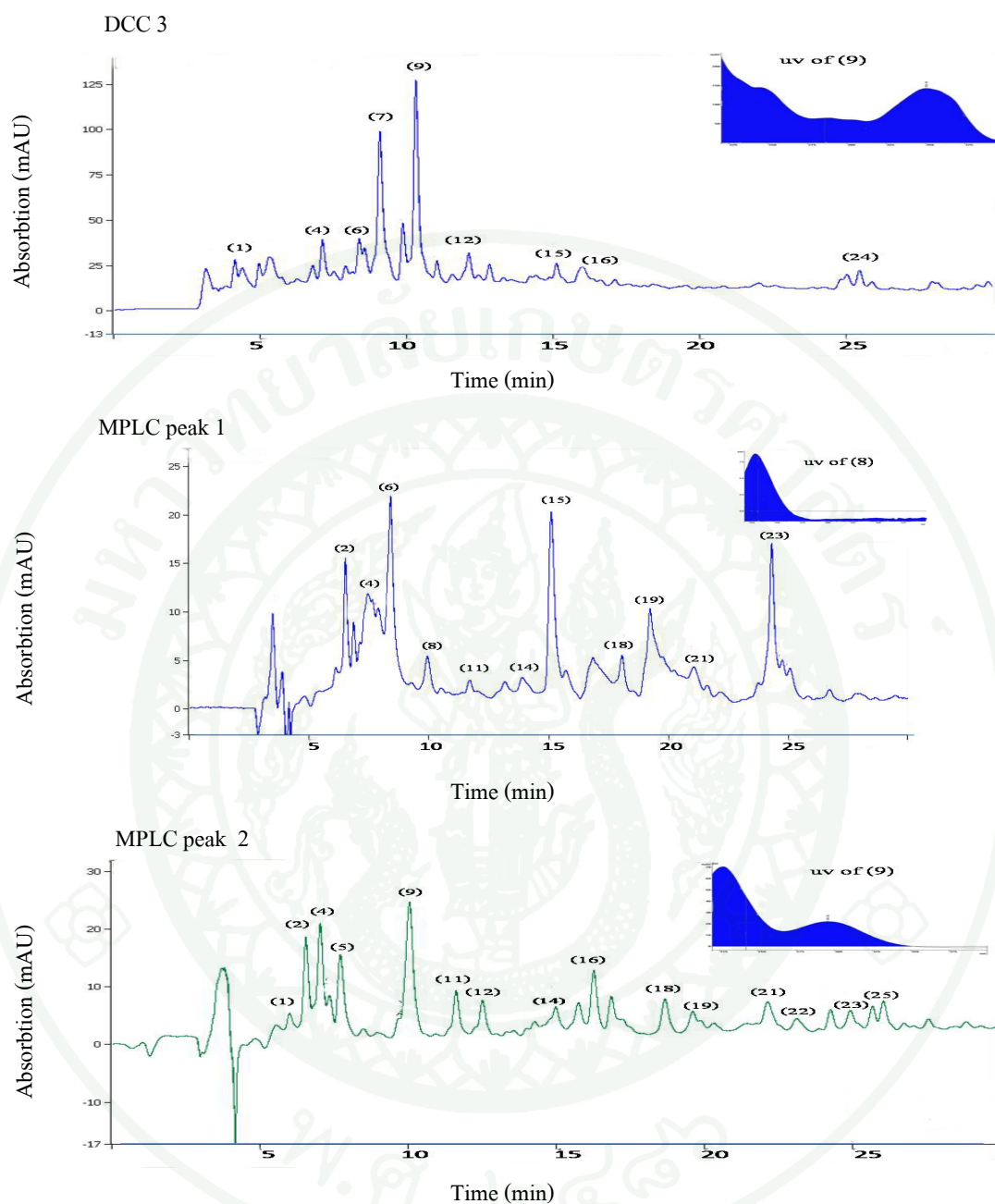
2.1 การสกัดแยกสาร และการทำสารให้บริสุทธิ์จากสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane โดยนำสารสกัดนี้จำนวน 0.8 กรัมมาแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค dry column chromatography และ middle pressure liquid chromatography เมื่อนำสารที่แยกได้จากทั้ง 2 เทคนิค มาตรวจสอบเปรียบเทียบกับสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane ด้วยเทคนิค HPLC ต่อเชื่อมกับ UV photodiode array detector ตามวิธีในข้อ 2.4.1 นั้น พบสารที่น่าสนใจปรากฏ peak ใน HPLC chromatogram ในช่วง retention time ที่ 9 -10 นาที ดังแสดงในตารางที่ 9 และภาพที่ 13 และ 14 แต่ไม่สามารถแยกสารบริสุทธิ์ออกมาได้ เช่นเดียวกับการนำสารสกัดกะเม็งด้วย butanol มาสกัดแยกสารให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค quick column chromatography นั้นไม่สามารถแยกสารบริสุทธิ์ออกมาได้เช่นกัน

ตารางที่ 9 แสดง retention time (Rt) ของ peak ใน HPLC chromatogram ของสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane และสารที่แยกด้วย dry column chromatography (DCC) และ middle pressure liquid chromatography (MPLC)

ตำแหน่งของ peak ที่ปรากฏ	Dichloromethane extract Rt (min)	DCC fractions Rt (min)			MPLC peak Rt (min)	
		1	2	3	1	2
1	-	4.912	4.869	4.127	-	5.983
2	-	-	-	-	6.500	6.533
3	-	-	-	-	6.844	-
4	-	-	-	7.115	7.432	7.020
5	-	-	7.923	-	7.865	7.699
6	-	8.561	8.820	8.368	8.384	-
7	9.246	9.314	-	9.074	-	-
8	-	-	-	9.857	9.925	-
9	10.106	-	-	10.300	-	10.031
10	10.600	10.678	-	-	-	-
11	-	-	-	11.019	11.685	11.607
12	-	-	12.173	12.106	-	12.496
13	13.229	12.703	-	12.812	13.157	-
14	14.974	-	-	-	13.874	14.968
15	15.752	-	15.077	15.100	15.089	15.736
16	-	16.246	-	15.981	16.830	16.252
17	-	-	-	-	-	16.844
18	-	-	-	-	18.042	18.657
19	-	-	-	-	19.211	19.592
20	20.573	20.084	-	-	21.040	-
21	-	22.430	-	-	-	22.118
22	-	24.092	23.118	-	-	23.105
23	-	-	23.832	-	24.289	24.242
24	25.968	25.699	-	25.442	-	25.563
25	-	26.125	26.312	-	-	26.028
26	-	27.866	27.425	-	-	-
27	-	28.555	-	-	-	-



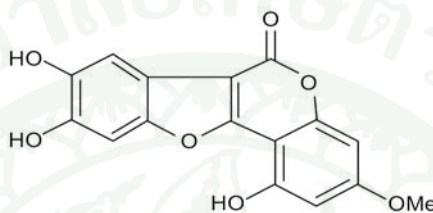
ภาพที่ 13 เปรียบเทียบ HPLC chromatogram ของสารสกัดด้วย dichloromethane และ fraction ที่แยกออกมาจาก dry column chromatography (DCC fraction 1-3)



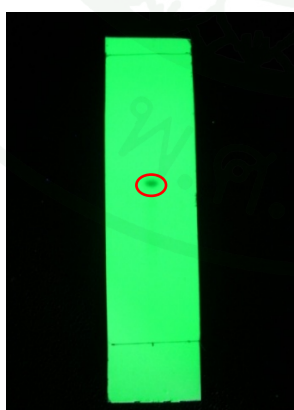
ภาพที่ 14 เปรียบเทียบ chromatogram ของ fraction 3 จาก dry column chromatography (DCC fraction 3) และ chromatogram ของสารที่แยกจาก DCC fraction 3 โดยใช้เทคนิค MPLC (MPLC fraction 1-2)

2.2 การสกัดแยกสาร และการทำสารให้บริสุทธิ์จากสารสกัดกะเม็งด้วย ethyl acetate ด้วยเทคนิค dry column chromatography นั้นได้ผลิตภัณฑ์เข็มใสสีเหลือง นำมาตกผลึกซ้ำให้ได้สารบริสุทธิ์ ตรวจสอบค่าทางกายภาพ รวมทั้งตรวจด้วยเทคนิค spectroscopy พบว่าเป็นผลิตภัณฑ์สาร wedelolactone ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

สาร wedelolactone



ลักษณะผลึก :	รูปเข็ม (needle) ใสสีเหลืองอ่อน
การละลาย :	acetone, ethanol, methanol และ DMSO
R _f value :	0.58 (toluene : acetone : formic acid, 11 : 6 : 1, 365 nm) (ภาพที่ 15)
จุดหลอมเหลว :	> 300 °C
สูตรโมเลกุล :	C ₁₆ H ₁₁ O ₇
น้ำหนักโมเลกุล :	314



uv 254 nm



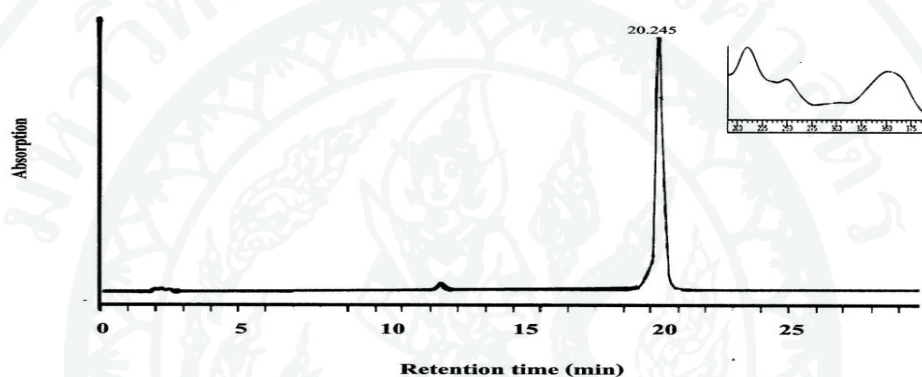
uv 365 nm

ภาพที่ 15 การตรวจสอบสาร wedelolactone ด้วย TLC ได้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 และ 365 nm

ข้อมูลสเปกตรัม (Spectral data) ของ wedelolactone

1. Ultraviolet Spectrometer (UV)

HPLC ที่ retention time (Rt) 20.245 นาที ระบบตัวทำละลาย 0.1 N Ortho-phosphoric acid ใน acetonitrile และ 0.1 N Ortho-phosphoric acid ใน DI water (ภาพที่ 16) UV λ_{max} MeOH (nm) : 222, 250, 310, 350 (ภาพผนวกที่ 1)



ภาพที่ 16 HPLC chromatogram และ UV spectrum ของสาร wedelolactone

2. Fourier Transform Infrared Spectrometer (FT-IR) FT-IR ν_{max} cm^{-1} (ภาพผนวกที่ 2)

FT-IR, ν_{max} (cm^{-1}) = 3302.52 (O-H), 1710.11(C=O), 1631.46 (C=C), 1599.57(C=C), 1442.10, 1414.12, 1279.66, 1034.81

3. Mass Spectrometer (MS) โดยใช้เทคนิค Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI; m/z (ภาพผนวกที่ 3)

HRMS (APCI), m/z calcd. For $\text{C}_{16}\text{H}_{11}\text{O}_7$ [M+H] $^{+}$ 315.0499, Measured 315.0427

4. Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (NMR)

4.1 ^1H NMR (δ ppm, 400 MHz DMSO- d_6) (ภาพผนวกที่ 4)

^1H NMR (DMSO- d_6) δ : 10.97 (s, 1H, ArOH), 9.43 (s, 1H, ArOH), 9.36 (s, 1H, ArOH), 7.24 (s, 1H, H-8), 6.62 (s, 1H, H-6), 6.46 (s, 1H, H-13), 9.82 (s, 3H, OCH₃)

4.2 ^{13}C NMR (δ ppm, 400 MHz DMSO- d_6) (ภาพผนวกที่ 5)

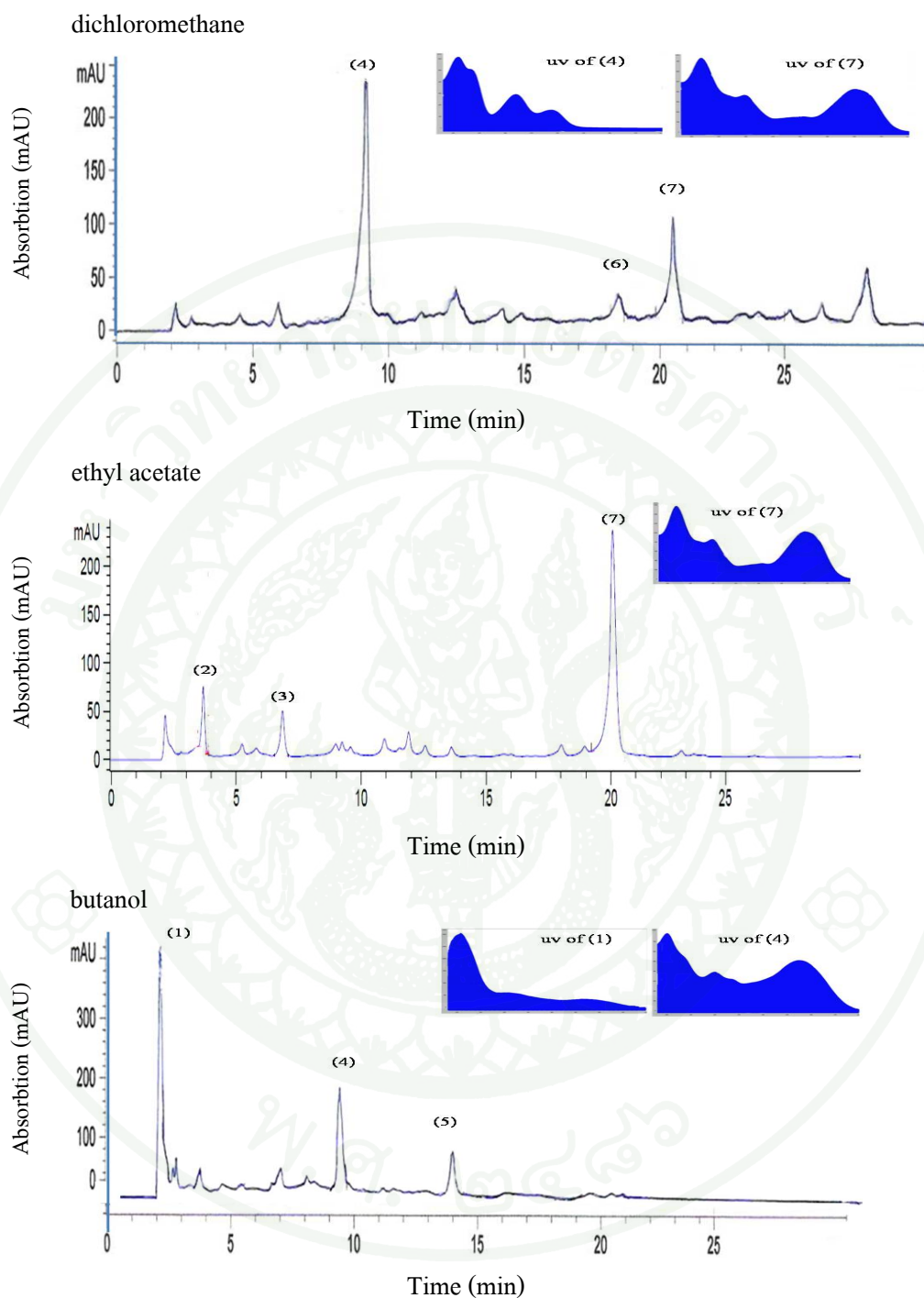
^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ : 161.92, 158.59, 157.45, 154.95, 154.49, 148.55, 145.10, 144.02, 113.41, 104.24, 101.38, 98.57, 97.84, 96.40, 92.94, 55.43

3. การเปรียบเทียบเชิงคุณภาพด้วยเทคนิค HPLC ของสารสกัดกะเม็งจาก dichloromethane, ethyl acetate และ butanol

เมื่อนำสารสกัดจากกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดคือ dichloromethane, ethyl acetate และ butanol มาวิเคราะห์ในเชิงคุณภาพด้วยเครื่อง HPLC ที่ต่อเชื่อมกับ UV photodiode array detector ตามวิธีในข้อ 2.4.2 นั้นได้ข้อมูลในรูปแบบของ chromatogram ที่แสดงรูปแบบของสารสำคัญบางชนิดที่พบในสารสกัดทั้ง 3 ชนิด โดยเปรียบเทียบรูปแบบของพีคที่เกิดขึ้นที่ retention time (Rt) ต่างๆ มีความเหมือนและต่างกันดังแสดงในตารางที่ 10 และภาพที่ 17 พบว่าจากการเปรียบเทียบ chromatogram ของสารสกัดกิ่งหยابที่สกัดจาก dichloromethane และ ethyl acetate แสดงสารสำคัญในพีคที่ 7 ที่ระยะเวลาใกล้เคียงกัน คือ Rt ที่ 20.488 และ 20.314 นาที ตามลำดับ ซึ่งมีลักษณะของ UV spectrum ที่เหมือนกัน แต่ในสารสกัดด้วย butanol กลับไม่พบสารสำคัญที่เหมือนกับสารสกัด 2 ชนิดแรก

ตารางที่ 10 แสดง retention time (Rt) ของสารสกัดจากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด และสารบริสุทธิ์

ตำแหน่งของ peak ที่ปรากฏ	CH ₂ Cl ₂ extract Rt (min)	EtOAc extract Rt (min)	BuOH extract Rt (min)	Wedelolactone Rt (min)
1	-	-	2.413	-
2	-	3.745	-	-
3	-	7.067	-	-
4	9.173	-	9.231	-
5	-	-	13.713	-
6	18.125	-	-	-
7	20.488	20.314	-	20.245



ภาพที่ 17 เปรียบเทียบ HPLC chromatogram ของสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane, ethyl acetate และ butanol

4. ผลการทดสอบการย้อมติดสีผืนผ้า

จากการศึกษาการย้อมเส้นผืนผ้าธรรมชาติ และเส้นผืนผ้าฟอกสีด้วยสารสกัดจากกะเม็ง แล้วนำเส้นผืนผ้าที่ย้อมสีจากสารสกัดกะเม็งได้ไปวัดค่า L^* , a^* , b^* , C^* และ h° แล้วนำไปวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยได้ผลดังแสดงในตารางที่ 11 และในภาพที่ 18 และ 19

จากตารางที่ 12 จะเห็นว่าค่า L^* ซึ่งบอกถึงค่าความสว่างของเส้นผืนผ้าธรรมชาติ และเส้นผืนผ้าฟอกสีมีค่า L^* โดยเฉลี่ยไม่แตกต่างกันมากนัก ยกเว้นเส้นผืนผ้าฟอกสีที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็งด้วย methanol ผสม mordant ที่มีค่าเฉลี่ยน้อยกว่าตัวอย่างอื่นๆ อย่างชัดเจน

ค่า a^* หมายถึงค่าความเป็นสีแดง-เขียว พบว่าค่า a^* ของเส้นผืนผ้าธรรมชาติและเส้นผืนผ้าฟอกส่วนใหญ่มีค่าบวก และค่อนข้างน้อย ยกเว้นเส้นผืนผ้าที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane มีค่าเป็นลบที่แสดงถึงความเป็นสีเขียว แต่มีค่าไม่สูงนัก ซึ่งเมื่อพิจารณาจากค่า a^* ของเส้นผืนผ้าทั้งหมดนั้นเข้าใกล้ 0 จึงจัดได้ว่าเข้าใกล้สีขาว

ค่า b^* หมายถึงค่าความเป็นสีเหลือง-น้ำเงิน เส้นผืนผ้าทดลองมีค่า b^* เป็นบวก แสดงถึงความเป็นสีเหลือง โดยเฉพาะเส้นผืนผ้าฟอกสีในชุดควบคุม และย้อมด้วยสารสกัดที่ไม่ได้ผสม mordant มีค่าเฉลี่ยที่ใกล้เคียงกัน แต่เส้นผืนผ้าที่ย้อมด้วยสารสกัดผสม mordant ที่ค่าเฉลี่ยของ b^* ลดลง ส่วนเส้นผืนผ้าธรรมชาติมีค่าเฉลี่ยของ b^* ที่ใกล้เคียงกัน และมีค่าน้อยกว่าเส้นผืนผ้าฟอกสีอย่างชัดเจน

ค่า C^* บ่งบอกความบริสุทธิ์หรือความสดใสของสี พบว่าเส้นผืนผ้าทดลองมีค่าความสดใสของสีค่อนข้างต่ำ และมีค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันไม่มากนักในเส้นผืนผ้าชนิดเดียวกัน แต่เส้นผืนผ้าฟอกสีจะมีค่า C^* โดยเฉลี่ยที่สูงกว่าเส้นผืนผ้าธรรมชาติ

ค่า h° คือค่าบ่งบอกสีของเส้นผืนผ้าทดลอง ซึ่งเส้นผืนผ้าธรรมชาติ, เส้นผืนผ้าฟอกสี ในชุดควบคุม และเส้นผืนผ้าผ่านการย้อมส่วนใหญ่เป็นสีเหลือง โดยเฉพาะเส้นผืนผ้าธรรมชาติที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane ยกเว้นเส้นผืนผ้าฟอกที่ย้อมด้วยสารสกัดผสม mordant นั้นมีค่า h° โดยเฉลี่ยแตกต่างจากเส้นผืนผ้าอื่นอย่างชัดเจน และมีค่าสีใกล้เคียงสีส้ม-เหลือง

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสารสกัดจากกะเม็งที่นำมาเชื่อมเส้นผมนั้นมีค่าความเป็นกรดที่ใกล้เคียงกัน ยกเว้นสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane ที่มีค่าความเป็นกรดมากกว่าสารสกัดอื่นๆ

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ย L^* , a^* , b^* , C^* และ h° ของเส้นผมที่เชื่อมด้วยสารสกัดกะเม็ง

ชนิดผม	ชนิดสารเชื่อม	ค่าเฉลี่ย ^u					ค่า pH
		L^*	a^*	b^*	C^*	h°	
ผมขาว	ชุดควบคุม	64.388a	1.226e	7.0439f	7.154e	80.160bc	-
	สารสกัดหยาบ	54.617d	1.506e	10.443de	10.583cd	80.862bc	5.77
	สารสกัดจาก CH_2Cl_2	62.900ab	-0.536f	12.902d	12.916c	90.904a	4.26
	สารสกัดชั้นน้ำ	58.554cd	1.420e	11.766d	11.861cd	82.790b	5.44
	Mordant + สารสกัดหยาบ	54.189d	2.659d	8.590ef	9.037de	73.037d	5.03
ผมฟอกสี	ชุดควบคุม	64.098a	6.607b	20.170bc	21.227b	71.871d	-
	สารสกัดหยาบ	56.515cd	4.277c	22.044b	22.468b	78.989bc	5.77
	สารสกัดจาก CH_2Cl_2	58.150cd	4.830c	21.826b	22.373b	77.497c	4.26
	สารสกัดชั้นน้ำ	59.557bc	6.061b	26.959a	27.635a	77.322c	5.44
	Mordant + สารสกัดหยาบ	41.936e	11.524a	17.251c	20.227b	56.220e	5.03

^u = ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 18 เส้นผมขาวธรรมชาติที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็งเปรียบเทียบกับชุดควบคุม



ภาพที่ 19 เส้นผมฟอกสีที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็งเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

วิจารณ์

จากการศึกษาทางพฤกษเคมีของสารสกัดจากกะเม็งที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ ได้แก่ dichloromethane, ethyl acetate และ butanol เมื่อนำมาตรวจสอบกลุ่มสารสำคัญในเบื้องต้น (phytochemical screening) พบสารในกลุ่ม coumarin ในสารที่สกัดแยกด้วย dichloromethane, ethyl acetate และ butanol ส่วนสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid พบเฉพาะในสารที่สกัดแยกด้วย dichloromethane ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lee *et al.* (2008) ที่แยกสารกลุ่ม oleanane-type triterpenoids ได้ 6 ชนิดคือ echinocytic acid, eclalbasaponin I-V ส่วนสารกลุ่ม coumarin ที่พบในสารสกัดทั้ง 3 ส่วนนั้นมีผลไม่ชัดเจนมากนักหลังจากการทดสอบด้วยสารละลาย 10% NaOH ซึ่งโดยทั่วไปสารกลุ่ม coumarin เรืองแสงสีเขียวเหลือง หรือสีฟ้า โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเปิดของ lactone ring ซึ่งหลังจาก coumarin ทำปฏิกิริยากับด่างได้เป็นเกลือของ o-hydroxycinnamic acid ในรูปของ cis-form ซึ่งไม่เรืองแสง ต่อเมื่อถูก irradiate ด้วยแสง uv จึงเกิด isomerization ได้เป็น trans-form และเรืองแสง (ถนอมศรี และอ้อมบุญ, 2533; รัตนา, 2547; Cannell, 1998) และจากการทดสอบกลุ่มสารที่เป็น unsaturated lactone ring ในสารสกัดกะเม็งในทุกตัวทำละลาย ไม่พบสารกลุ่มนี้เนื่องจากไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสีเมื่อทดสอบด้วย Kedde's reagent และ Raymond's reagent ถึงแม้ว่าสามารถตรวจพบสารกลุ่ม coumarin ซึ่งมีโครงสร้างที่เป็น unsaturated lactone ring ในสารสกัดกะเม็ง แต่ผลการตรวจสอบ coumarin เห็นได้ไม่ชัดเจน ดังนั้นอาจอธิบายได้ว่าอาจเนื่องจากปริมาณ unsaturated lactone ring ในสารสกัดกะเม็งมีปริมาณน้อย ดังนั้น Kedde's reagent และ Raymond's reagent มีความไวไม่พอที่จะตรวจสอบสารกลุ่มนี้ได้ นอกจากนี้ไม่พบสารกลุ่ม alkaloid และ iridoid ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Dalal *et al.* (2010) ที่ตรวจสอบสารสำคัญในเบื้องต้นของสารสกัดกะเม็งพบสารในกลุ่ม tannin, flavonoid, coumestan, saponin และ alkaloid

การตรวจวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HPLC นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane และ fraction ต่างๆ จำนวน 3 fraction ที่แยกได้จากสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane โดยใช้เทคนิค dry column chromatography (ภาพที่ 13) พบว่าในสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane (0.8 กรัม) มีสารที่น่าสนใจที่ retention time = 10.6 นาที คือ peak ที่ 10 ใน HPLC chromatogram ของ dichloromethane extract ซึ่ง peak นี้ น่าเป็น peak เดียวกับ peak ที่ 9 ของ chromatogram ของ dry column chromatography fraction ที่ 3 (DCC 3) เนื่องจากมี retention time ที่ใกล้เคียงกับ peak ที่ 10 ของสารสกัดด้วย dichloromethane มาก คือที่ 10.3 นาที (ตารางที่ 9) นอกจากนี้ peak ที่ 10 ของ dichloromethane extract และ peak ที่ 9 ของ DCC 3 มี UV spectrum ที่มี

รูปร่างเหมือนกัน และมีค่า $\lambda_{\max}$ เหมือนกันดังนี้ $\lambda_{\max}$ MeOH (nm) : 248.77, 280, 297, 350.65 และเนื่องจาก fraction 3 นี้ มีน้ำหนักมากที่สุดคือ 0.16 กรัม ดังนั้นจึงได้นำมาแยกต่อโดยใช้เทคนิค MPLC แต่จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC และนำ chromatogram มาเปรียบเทียบกับในภาพที่ 15 พบว่า ที่ peak ที่ 9 ของ DCC 3, peak ที่ 8 ของ MPLC fraction 1 และ peak ที่ 9 ของ MPLC fraction 2 มี retention time ใกล้เคียงกัน คือ 10.3 นาที 9.925 นาที และ 10.031 นาที ตามลำดับ แต่มี UV chromatogram ที่มีรูปร่างแตกต่างกัน ดังนั้นจาก peak ที่ปรากฏทั้ง 3 peak นี้ แสดงว่าสารที่แยกออกมาด้วย MPLC ไม่ใช่สารเดียวกันกับสารที่มีอยู่ใน DCC fraction 3 และนอกจากนี้ HPLC chromatogram ของ MPLC fraction 1 และ MPLC fraction 2 ยังแตกต่างจาก HPLC chromatogram ของสารสกัดตั้งต้นที่นำมาแยกคือ DCC fraction 3 ดังนั้นแสดงว่า สารเคมีที่มีในสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane ไม่เสถียร

จากการศึกษาทางพิษวิทยาของกะเม็งที่สกัดแยกด้วย ethyl acetate นำมาแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค dry column chromatography ได้ผลิตภัณฑ์เพิ่มสี่เหลืองใส เมื่อนำผลิตภัณฑ์นั้นมาวิเคราะห์ด้วยวิธีทาง spectroscopy ด้วย UV, FT-IR, MS, ^1H และ ^{13}C NMR ร่วมกับการเปรียบเทียบกับข้อมูลอื่นๆ สรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์เป็นสาร wedelolactone ซึ่งการแยกสารนี้ปรับมาจากวิธีการของ Wagner *et al.* (1986) จากลักษณะโครงสร้างของสาร wedelolactone ซึ่งเป็นสารกลุ่ม coumestan คือ 6-H-benzofuro [3,2-c]-[1] benzeopyran-6-one ดังแสดงในภาพที่ 13 ซึ่งมีโครงสร้างพื้นฐานคือ coumarin ที่มีอนุพันธ์ lactone ของ cis-o-hydroxycinnamic acid (Li *et al.*, 2003; Cai *et al.*, 2004) ซึ่งอธิบายได้ถึงผลของการตรวจสอบกลุ่มสารในเบื้องต้นของ coumarin

Pithayanukul *et al.* (2004) สกัดกะเม็งสดด้วย methanol โดยใช้เครื่อง soxhlet นำสารสกัดหยาบที่ได้มาละลายน้ำ และนำสารละลายมาแยกต่อด้วย ethyl acetate และ butanol ตามลำดับ สามารถแยกสาร demethylwedelolactone จากสารสกัดในส่วน of butanol แต่จากการศึกษาในครั้งนี้ไม่สามารถแยกสาร demethylwedelolactone สารสกัดจากกะเม็งด้วย butanol ถึงแม้เป็นการแยกตามวิธีของ Pithayanukul *et al.* (2004) อาจเนื่องมาจากวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้ใช้วิธีสกัดที่ไม่ใช้ความร้อนในการสกัด ดังนั้นสารสกัดด้วย butanol อาจมีปริมาณสารดังกล่าวไม่มากพอที่จะแยกออกมาได้

จากการทดสอบความสามารถในการย้อมติดสีของสารสกัดกะเม็งด้วย methanol, สารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane และสารสกัดกะเม็งด้วยน้ำ รวมทั้งการเติมสาร mordant ($\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ลงในสารสกัดด้วย methanol กับเส้นผม 2 ชนิด คือเส้นผมชาวธรรมชาติ และเส้นผมที่ผ่านการฟอกสี เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าเส้นผมฟอกสีมีการย้อมติดสีที่ชัดเจนกว่าเส้นผมชาวธรรมชาติ โดยเฉพาะในสีย้อมที่เติมสาร mordant และเมื่อนำเส้นผมทั้ง 2 ชนิดที่ผ่านการย้อมด้วยสารย้อมสีทั้งหมดมาเปรียบเทียบกับเส้นผมที่ไม่ผ่านการย้อมสี เมื่อนำมาวัดค่าสีของเส้นผม ได้ค่าสีของเส้นผมชาวธรรมชาติและเส้นผมฟอกสีที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็งที่ไม่ได้ผสม mordant อยู่ในโทนสีเหลือง ซึ่งน่าจะเป็นสีเหลืองของสารกลุ่ม flavonoid อันได้แก่ apigenin และ luteolin ตามรายงานของ Vankar *et al.* (2007) ซึ่งได้สกัดสารสีจากกะเม็งเพื่อใช้ในการย้อมผ้าฝ้ายโดยใช้วัดและบันทึกค่าของสารสีกลุ่ม flavanoid และ chlorophyll ด้วยเครื่อง uv-vis spectrometer ส่วนเส้นผมที่ย้อมด้วยสีย้อม (สารสกัดกะเม็ง) ที่ผสม mordant เมื่อมองด้วยตาเปล่าเห็นสีเทาเข้ม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Devi *et al.* (2002) ที่ศึกษาการย้อมสีผ้าไหมด้วยสารสกัดจากกะเม็งร่วมกับ mordant ที่เป็นเกลือของโลหะต่างๆ ซึ่งผลการย้อมนั้นได้ผ้าในโทนสีเหลืองเขียวเข้ม และ Vankar *et al.* (2007) ที่ได้นำสารสีที่สกัดจากกะเม็งมาย้อมผ้าฝ้ายโดยใช้ร่วมกับสาร mordant อันได้แก่ stannous chloride, stannic chloride, ferrous sulphate, copper sulphate และ potassium dichloride ได้ผ้าที่มีโทนสีเขียว สีนํ้าตาล และสีเหลือง เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการติดสีของเส้นผมชาวธรรมชาติ และเส้นผมฟอกนั้นพบว่าเส้นผมที่ผ่านการฟอกย้อมติดสีได้ดีกว่าเนื่องมาจากบริเวณผิวชั้นนอกของเส้นผมถูกทำลายด้วยสารฟอกพวก hydrogen peroxide โดยทำปฏิกิริยา oxidization กับพันธะ disulphide ใน keratin ส่งผลให้ผิวด้านนอกของเส้นเป็นรูพรุน และยังชะสีของผมให้อ่อนลงเนื่องจาก melanin ในชั้น cortex ถูกทำลาย เมื่อนำเส้นผมมาย้อมสี เม็ดสีจะแทรกซึมผ่านรูพรุนเข้าเกาะที่บริเวณ cortex หรือตกตะกอนบนชั้น cuticle ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดโมเลกุลของสีย้อม และชนิดของสีที่ใช้ย้อม โดยมากแล้วสีย้อมจากธรรมชาติที่นิยมใช้แพร่หลายคือสีจากเทียนกิ่ง (henna) ซึ่งให้สีส้ม-แดง ชาโมมายด์ (chamomile) ให้สีเหลือง ประเทศในแถบเอเชียนิยมใช้สีธรรมชาติจาก walnut และ logwood ซึ่งให้สีดำในการย้อมผมขาว นอกจากนี้ยังมีสีจากโลหะซึ่งเป็นเกลือของ เงิน ตะกั่ว หรือ bismuth เป็นที่นิยมในการย้อมผมผู้ชาย อย่างไรก็ตามในขบวนการย้อมด้วยสีจากโลหะนั้นจะมีกลิ่นของกำมะถันซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาระหว่าง cysteine ใน cuticle กับ metal sulphide ทำให้มีตะกอนสะสมใน cuticle ทำให้ผมมีสีทึม และเปราะขาดได้ง่าย (Harrison and Sinclair, 2004) นอกจากการฟอกเส้นผม และการเติมสาร mordant ลงในการย้อมแล้วนั้น ปัจจัยที่มีผลต่อการย้อมติดสีผมยังประกอบด้วย ขนาดโมเลกุลของสี ค่าความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ตัวทำละลาย และระยะเวลาในการย้อม รวมทั้งโครงสร้างของเส้นผม (Dawber, 1996; Ballarin *et al.*, 2007; Komboonchoo and Bechtold, 2009)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. กลุ่มสารสำคัญที่ตรวจพบในเบื้องต้นของกะเม็ง คือ coumarin พบในสารสกัดด้วย dichloromethane และ ethyl acetate ส่วนสารกลุ่ม steroid และ triterpenoid พบเฉพาะสารสกัดกะเม็งด้วย dichloromethane
2. บริสุทธิ์ที่แยกได้จากสารสกัดกะเม็งด้วย ethyl acetate โดยเทคนิค dry column chromatography และจากการวิเคราะห์ข้อมูลทาง spectroscopy (UV, FT-IR, MS, ^1H และ ^{13}C NMR) ร่วมกับการเปรียบเทียบข้อมูลอื่นๆ พบว่าสารบริสุทธิ์นั้นคือ wedelolactone
3. จากการทดสอบการย้อมเส้นผมชาวธรรมชาติ และผมฟอกสีด้วยสกัดกะเม็ง พบว่าเส้นผมฟอกสีสามารถย้อมติดสีที่ชัดเจนเส้นผมชาวธรรมชาติ โดยเส้นผมทั้ง 2 ชนิดย้อมติดสีเหลืองในสารสกัดที่ไม่ได้ผสมสาร mordant แต่เมื่อเติมสาร mordant ลงในสารสกัดกะเม็งด้วย methanol พบว่าเส้นผมทั้ง 2 ชนิด ย้อมติดสีเทาเข้มเมื่อมองด้วยตาเปล่า โดยเฉพาะเส้นผมฟอกสี เมื่อวัดค่าสีพบว่าค่า L^* (ความสว่าง) ของเส้นผมมีค่าต่ำ ค่า a^* เป็นบวกซึ่งเป็นสีแดง ค่า b^* เป็นบวกคือสีเหลือง มีค่า $C^* = 20.227$ คือค่าความสว่างของเส้นผม และค่า h° องศาของสีซึ่งอยู่ในบริเวณสีแดง-ส้ม

ข้อเสนอแนะ

1. สารบริสุทธิ์ที่แยกได้ควรมีการศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านต่างๆ และส่งเสริมให้มีการนำไปใช้ประโยชน์เนื่องจากเป็นพืชที่พบได้โดยทั่วไปในบริเวณที่มีความชุ่มชื้นทั่วทุกภาคของไทย
2. ในการทดสอบการย้อมผมควรเพิ่มปัจจัยในการย้อมผมเช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ระยะเวลาในการย้อม หรือสาร mordant เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการย้อมได้ดีขึ้น รวมทั้งการย้อมซ้ำ การสระซ้ำ เพื่อแสดงถึงประสิทธิภาพของสีย้อม

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

ก่องกานดา ชยามฤต. 2528. **สมุนไพรไทย ตอนที่ 4**. ฝ่ายพฤกษศาสตร์ป่าไม้ กองบำรุง กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

จุฬามาศ โคมะนิตย์, จุฬาทิพย์ โคมะนิตย์, ทิพวรรณ ศาสตร์พลกรัง, เตือนจิต สนมสมบัติ และ
สาโรช กังคสังค์. **การทำหมึกโรเนียวจากกะเม็ง**. โครงการวิทยาศาสตร์ระดับมัธยมศึกษา
ตอนต้น ประเภทวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ในการประกวดโครงการวิทยาศาสตร์ระดับประเทศ
ประจำปี 2545 จัดโดยสมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยในพระบรมราชูปถัมภ์ ระหว่าง
วันที่ 24-26 ตุลาคม 2545 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติสิริกิติ์, กรุงเทพฯ.

เต็ม สมิตินันท์. 2544. **ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย**. ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่า
ไม้ กรมป่าไม้, กรุงเทพฯ.

ถนอมศรี วงศ์รัตนสถิตย์ และ อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2533. องค์ประกอบเคมีในพืชสมุนไพร: กลัย
โคไซด์, น. 61-156. ใน **เอมอร์ โสมนะพันธ์, นพมาศ สรรพคุณ, วิณา จิรัชฌริยากุล และ**
อ้อมบุญ ล้วนรัตน์, บรรณาธิการ. ยาจากสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล,
กรุงเทพฯ.

นฤภา วงศ์ปิยะรัตนกุล. ม.ป.ป. **สมุนไพรในผลิตภัณฑ์เส้นผม**. กองควบคุมเครื่องสำอาง.
สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, กรุงเทพฯ.

นันทวัน บุญยะประภัศร. 2536. การตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากพืช, น. 116-129.
ใน **วันดี ฤกษ์พันธ์, บรรณาธิการ. เภสัชวินิจฉัย ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1**.
ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

นันทวัน บุญยะประภัศร. 2539. **สมุนไพรไม้พื้นบ้าน 1**. สำนักข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล. บริษัทประชาชนจำกัด, กรุงเทพฯ.

พรทิพย์ นิมมานนิตย์. 2527. การบำรุงรักษาผมและแชมพู. ภาควิชาเภสัชกรรม. คณะเภสัชศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

มณวรัตน์ ศักดิ์พานิช และ มัลลิกา เหล่าวีระธรรม. 2539. การพัฒนาตำรับยาอ้อมผมจากสมุนไพร. โครงการพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยมหิดล.

มาลินี เจริญผลดี และ ลาวัลย์ อานนท์ไพฑูรย์. 2529. การพัฒนาตำรับยาสระผมและยาอ้อมผมด้วยสมุนไพร. โครงการพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยมหิดล.

รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

วันดี กฤษณพันธ์ และ นพมาศ สรรพคุณ. 2533. องค์ประกอบเคมีในพืชสมุนไพร: แอลคาลอยด์, น. 3-60. ใน เอมอร โสมนะพันธ์, นพมาศ สรรพคุณ, วิณา จิรจรรย์ยากุล และอ้อมบุญ ล้วนรัตน์, บรรณาธิการ. ยาจากสมุนไพร. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

วิทย์ เทียงบุญธรรม. 2531. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. โอ.เอส. พรินต์ติ้ง เฮาส์, กรุงเทพฯ.

ศรีนวล โกมลวนิช. 2516. เสริมสวยโครงการปรับปรุงโรงเรียนการช่างสตรี. หน่วยงานพิเศษกรมอาชีวศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ, กรุงเทพฯ.

สุวรรณา ชินตระการ, สุภาพร เชื้อมั่น และ สุริรัชต์ ลิ้มปนากร. 2534. การตั้งตำรับแชมพูปรับสภาพเส้นผมสูตรเบียร์เข้มข้น. โครงการปริญญานิพนธ์ปริญญาตรี. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ส่วนอุตสาหกรรมสิ่งทอ. 2542. ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับทฤษฎีวัดสี. กรุสภาคพรวัว, กรุงเทพฯ.

อ้อมบุญ ล้วนรัตน์, วันดี กฤษณพันธ์ และ นันทวัน บุญยะประภัศร. 2536. เภสัชวินิจัย ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เล่ม 1. ภาควิชาเภสัชวินิจัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ.

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, งามพ่อง คงคาทิพย์, สุภนิตา บัวบาน, นวลอนงค์ นาคคง และ นิภา เชื้อนควบ. 2544. การศึกษาการติดสีผสมของสารสกัดจากใบเทียนกิ่ง (*Lawsonia inermis* Linn.), น. 253-258. ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39 (สาขาวิทยาศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, สุภนิตา บัวบาน, อุดมลักษณ์ สุขอัสตะ, พจมาน พิศเพียงจันทร์ และ สิริพร สิริวรรณ. 2549. ศักยภาพของพืชให้สีดำในการติดสีผสมขาว, น. 443-450. ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44. (สาขาวิทยาศาสตร์) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Abdel-Kader, M. S., B. D. Bahler, S. Malone, M. C.M. Werkhoven, F. van Troon, David, J. H. Wisse, I. Bursuker, K. M. Neddermann, S. W. Mamber and D. G.I. Kingston. 1998. DNA-Damaging steroidal alkaloids from *Eclipta alba* from the Suriname rainforest. **J. Nat. Prod.** 61: 1202-1208.

Adhhirajan, N., D.V. Kumar. and C. Gowri. 2001. Development and evaluation of herbal formation for hair growth. **Indian Drugs.** 38: 559-563.

Ballarin, B., S. Galli. and M. Morigi. 2007. Study of dyeing properties of semipermanent dyestuffs for hair. **International Journal of Cosmetic Science.** 29: 49-57.

Baskaran, P. and N. Jayabalan. 2005. Role of basal media, carbon sources and growth regulators in micropropagation of *Eclipta alba*-a valuable medicinal herb. **KMITL Sci J.** 5(2): 469-482.

Boulos, L. and el Hadidi M. 1984. **Nabil: the Weed Flora of Egypt.** The American University, Cairo Press, U.S.A.

- Cai, Y., Q. Luo., M. Sun and H. Corke. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**. 74: 2157-2184.
- Cannell, R. J.P. 1998. **Natural Products Isolation**. Human Press, U.S.A.
- Dalal, S., S. K. Kataria, KV. Sastry and SVS Rana. 2010. Phytochemical screening of methanolic extract and antibacterial activity of active principles of hepatoprotective herb, *Eclipta alba*. **Ethnobotanical Leaflets**. 14: 248-258.
- Dawber, R. 1996. Hair: Its structure and response to cosmetic preparations. **Clinics in Dermatology**. 14: 105-112.
- Devi, A.S., B.S. Sumanthy and V.K.L.T. Katyayini. 2002. *Eclipta prostrata* – a weed rich in coloured pigments for silk. **Man-Made Textiles In India**. 45: 181-188.
- Dewick, P. M. 2002. **Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach**. John Wiley & Son, Ltd., UK.
- Dhaka, N. and S.L. Kothari. 2005. Micropropagation of *Eclipta alba* (L.) Hassk – An important medicinal plant. **In Vitro Cell. Dev. Bio.-Plant**. 41: 658-661.
- Diogo, L. C., R. S. Fernandes., S. Marcussi., D. L. Menaldo., P. G. Roberto., P. V. F. Matragulo., P. S. Pereira., S. C. Franca., S. Giuliatti., A. M. Soares and M. V. Lourenco. 2009. Inhibition of snake venoms and phospholipases A₂ by extracts from native and genetically modified *Eclipta alba* : isolation of active coumestans. **Nordic Pharmacological Society**. 104: 293-299.
- Goodman, H. 1950. **Your Hair**. Emerson Books Inc., New York.

- Gopiesh khanna, V. and K. Kannabiran. 2008. Antimicrobial activity of saponin fractions of the leaves of *Gymnema sylvestre* and *Eclipta prostrata*. **World J Microbiol Biotechnol.** 24: 2737-2740.
- Harrison, S. and R. Sinclair. 2004. Hair colouring, permanent styling and hair structure. **Journal of Cosmetic Dermatology.** 2: 180-185.
- Houghton, P.J. and A. Raman. 1998. **Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extraction.** Chapman & Hall, UK.
- Jayathirtha, M. G. and S. H. Mishra. 2004. Preliminary immunomodulatory activities of methanol extract of *Eclipta alba* and *Centella asiatica*. **Phytomedicine.** 11: 361-365.
- Karthikuma,r S., K. Vigneswari and K. Jegatheesan. 2007. Screening of antibacterial and antioxidant activities of leaves of *Eclipta prostrate* (L). **Scientific Research and Eassy.** 2(4): 101-104.
- Keys, D. 1990. **Chinese Herbs-Their Botany, Chemistry and Pharmacodynamics.** Charles E.Tuttle Co., U.S A.
- Kobori, M., Z. Yang., D. Gong., V. Heissmeyer., H. Zhu., Y-K. Jung., M. A. A. Gakidis., A. Rao., T. Sekine., F. Ikegami., C. Yuan and J. Yuan. 2004. Wedelolactone suppresses LPS-induced caspase_11 expression by directly inhibiting the IKK complex. **Cell Death and Differentiation.** 11: 123-130.
- Komboonchoo, S. and T. Bechtold. 2009. Natural dyeing of wool and hair with indigo carmine (C.I. Natural Blue 2), a renewable resource base blue dye. **Journal of Cleaner Production.** 17: 1487-1493.

- Kumari, C. S., S. Govindasamy. and E. Sukumar. 2006. Lipid lowering activity of *Eclipta prostrata* in experimental hyperlipidemia. **Journal of Ethnopharmacology**. 105: 332-335.
- Lee, M., N. R. Ha., H. Yang., S. H. Sung and Y. C. Kim. 2008. Antiproliferative activity of triterpenoids from *Eclipta prostrata* on hepatic stellate cells. **Phytomedicine**. 15: 775-780.
- Lee, M., N. R. Ha., H. Yang., S. H. Sung and Y. C. Kim. 2009. Stimulatory constituents of *Eclipta prostrata* on mouse Osteoblast differentiation. **Phytotherapy Research**. 23: 129-131.
- Lewis, W.H. and M.P.F. Elvin-Lewis. 1977. **Medical Botany-Plants Affecting Man's Health**. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Li, C. C., Z. X. Xie., Y. D. Zhang., J. H. Chen and Z. Yang. 2003. Total synthesis of wedelolactone. **J. Org. Chem**. 68: 8500-8504.
- Melo, P. A. 1997. 9 Subatagonize the myotoxic effect of crotalid snake venoms. **J. Venom. Anim. Toxins**. 3(2).
- Merck, E. 1980. **Dyeing Reagents for Thin Layer and Paper Chromatography**. B. Grim Healthcare Co. LTD, Darmstadt, Federal Republic of Germany.
- Pithayanukul, P., S. Laovachirasuwan., R. Bavovada., N. Pakmanee and R. Suttisri. 2004. Anti-venom potential of butanolic extract of *Eclipta prostrata* against Malayan pit viper venom. **Journal of Ethnopharmacology**. 90: 347-352.

- Prabhu, N., J. P. Innocent., P. Chinnaswamy., K. Natarajaseenivasan and L. Sarayu. 2008. *In vitro* evaluation of *Eclipta alba* against seroups of *Leptospira interrogans*. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**. 70(6): 788-791.
- Prakash, T., N. R. Rao and A. H. M. Viswanatha Swamy. 2008. Neuropharmacological studies on *Wedelia calendulacea* Less stem extract. **Phytomedicine**. 15: 959-970.
- Rahman, M.S., R. Chowdhury., C. M. Hasan. and M. A. Rashid. 2005. Oleanane glycosides from *Eclipta prostrata*. **The Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences**. 4(2).
- Roy, R. K., M. Thakur and V. K. Dixit. 2008. Hair growth promoting activity of *Eclipta alba* in mail albino rats. **Arch Dermatol Res**. 300: 357-364.
- Sawant, M., J.C. Isaac and S. Narayanan. 2004. Analgesic studies on total alkaloids and alcohol extract of *Eclipta alba* (Linn.) Hassk. **Phytotherapy Research**. 18(2): 111-113.
- Seigler, D. S. 1995. **Plant Secondary Metabolism**. Kluwer Academic Publishers, U.S.A.
- Singh, P., A. K. Sharma., K. C. Joshi and F. Bohlmann. 1985. A further dithienylacetylene from *Eclipta erecta*. **Phytochemistry**. 24(3): 615-616.
- Singh, P. and S. Bhargava. 1992. A dithienylacetylene ester from *Eclipta erecta*. **Phytochemistry**. 31(8): 2883-2884.
- Tabassum, N. and S. S. Agrawal. 2004. Hepatoprotective activity of *Eclipta alba* Hassk. Against paracetamol induced hepatocellular damage in mice. **JK-Practitioner**. 11(4): 278-280.

- Tewtrakul, S., S. Subhadhirasakul and S. Kummee. 2006. Anti-HIV-1 integrase activity of medicinal plants used as self medication by AIDS patients. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 28(4): 785-790.
- Tewtrakul, S., S. Subhadhirasakul., S. Cheenpracha and C. Karalai. 2007. HIV-1 protease and HIV-1 integrase inhibitory substances from *Eclipta prostrata*. **Phytotherapy Research.** 21: 1092-1095.
- Thanh, N. T. V. and N. V. Dau. 2006. Bioactive principles of the Vietnamese *Eclipta alba* (L.) Hassk. (Asteraceae). **Journal of Chemistry.** 44(6): 777-781.
- Thakur, R.S., H.S. Puri., and A. Husain. 1989. **Major Medicinal Plants of India.** Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants. Lucknow, India.
- Thakur, V.D. and S.A. Mengi 2005. Neuropharmacological profile of *Eclipta alba* (Linn.) Hassk. **Journal of Ethanopharmacology.** 102: 23-31.
- Thanh, N. T. V. and N. V. Dau. 2006. Bioactive principles of the Vietnamese *Eclipta alba* (L.) Hassk (Asteraceae). **Journal of Chemistry.** 44 (6): 777-781.
- Unnikrishnan, K. P., A. Fathima, K. M. Hashim and I. Balachandran. 2007. Antioxidant studies and determination of wedelolactone in *Eclipta alba*. **Journal of Plant Sciences.** 2(4): 459-464.
- Vankar, P. S., R. Shanker. and J. Srivastava. 2007. Ultrasonic dyeing of cotton fabric with aqueous extract of *Eclipta alba*. **Dyes and Pigment.** 72: 33-37.
- Wagner, H., B. Geyer., Y. Kiso., H. Hikino and G. S. Rao. 1986. Coumestans as the main active principles of the liver drugs *Eclipta alba* and *Wedelia calendulacea*. **Planta Medica.** 5: 370-374.

Wiat, C., S. Mogana, S. Khalifah, M. Mahan, S. Ismail, M. Buckle, A.K. Narayana and M. Sulaiman. 2004. Antimicrobial screening of plants used for traditional medicine in the state of Perak, Peninsular Malaysia. **Fitoterpia**. 75: 68-73.

Yahara, S., N. Ding and T. Nohara. 1994. Oleanane Glycosides from *Eclipta alba*. **Chem. Pharm. Bull.** 42(6): 1336-1338.

Yahara, S., N. Ding., T. Nohara., K. Masuda. and H. Ageta. 1997. Taraxastane glycosides from *Eclipta alba*. **Phytochemistry**. 44(1): 131-135.

Zafar, R. and B.P.S. Sagar. 1999. In vitro plant regeneration of *Eclipta alba* and increased production of coumestans. **Fitoterpia**. 70: 348-356.



ภาคผนวก

การเตรียมสารเคมี

การเตรียมน้ำยา anisaldehyde sulfuric acid reagent

0.5 มิลลิลิตร anisaldehyde

50 มิลลิลิตร glacial acetic acid

1 มิลลิลิตร 97% sulfuric acid

เตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้

การเตรียมน้ำยา Драгендорф (Dragendorff's reagent)

สารละลาย a : bismuth (III) nitrate 0.85 กรัม

: glacial acetic acid 10 มิลลิลิตร

: distilled water 40 มิลลิลิตร

สารละลาย b : potassium iodide 8 กรัม

: distilled water 20 มิลลิลิตร

สารละลาย c : acetic acid 20 มิลลิลิตร

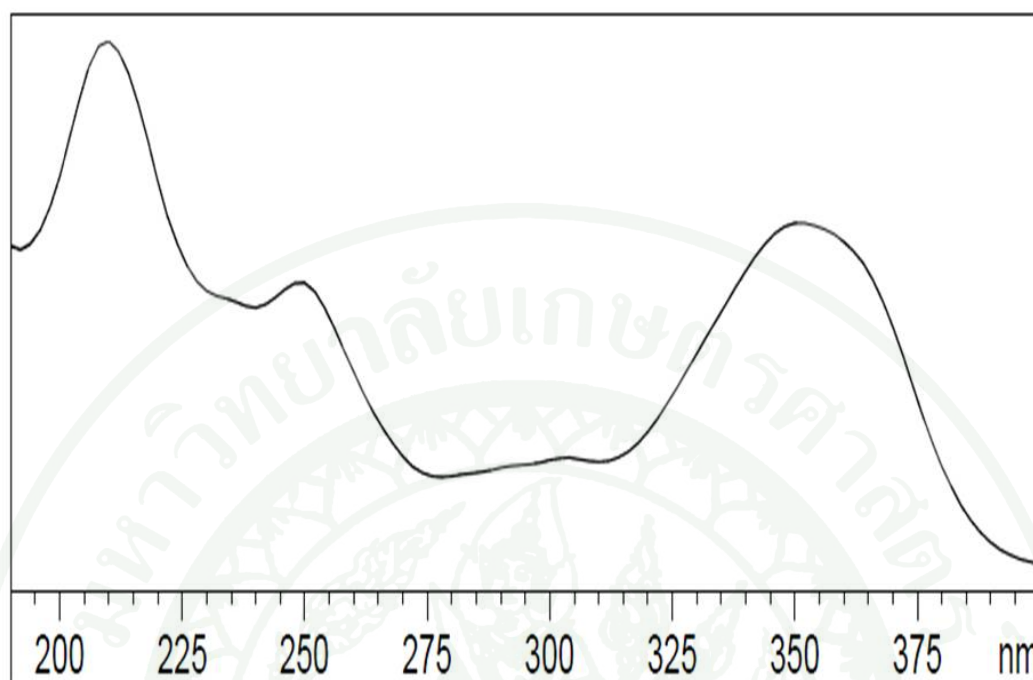
: distilled water 80 มิลลิลิตร

Stock solution : ผสมระหว่างสารละลาย a และ b ในอัตราส่วนที่เท่ากันเก็บไว้ใน

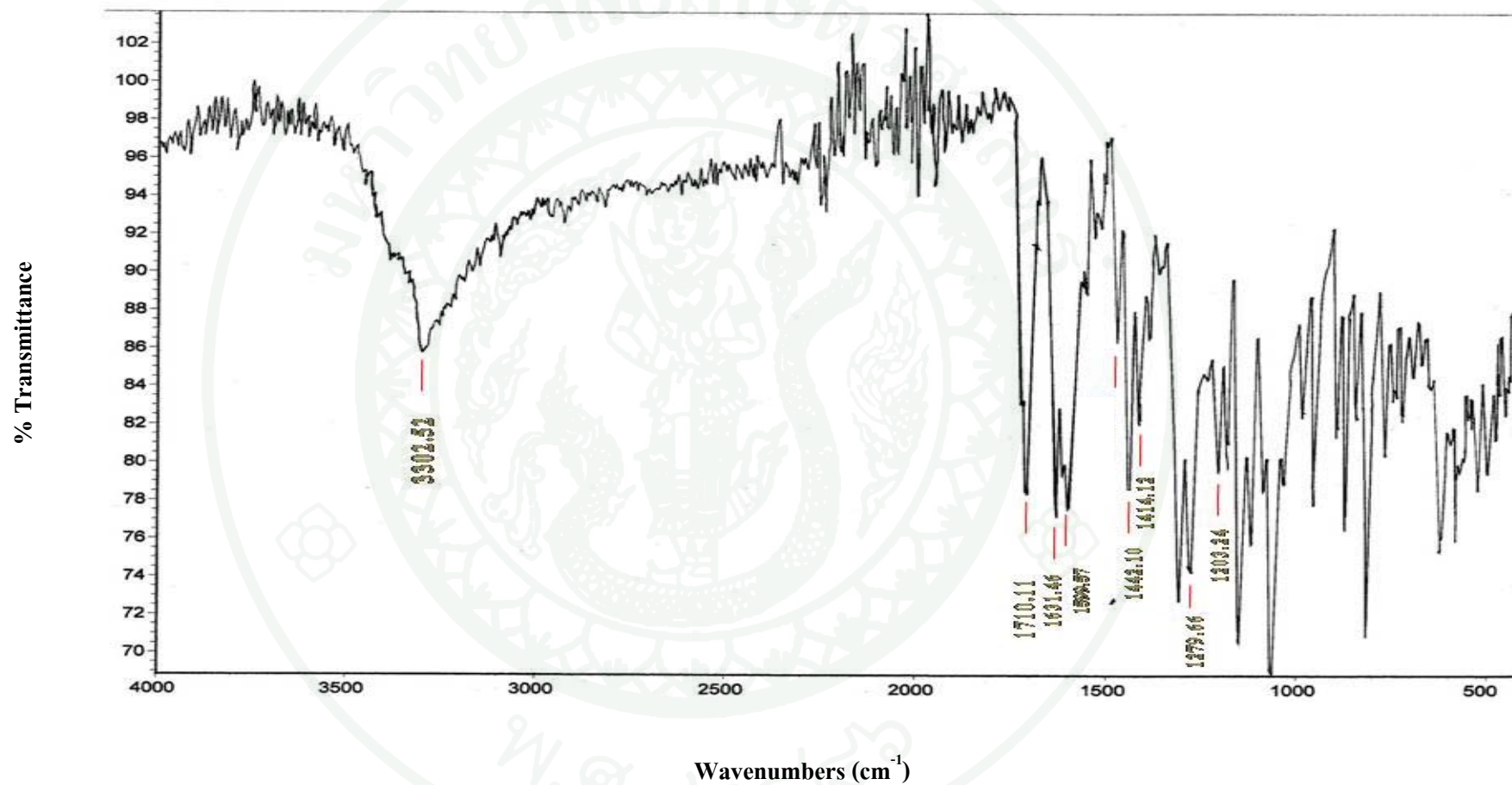
ขวดสีชา เก็บได้เป็นเวลานาน

เมื่อนำมาใช้ในการสเปรย์ (spray) ให้ผสม stock solution 10 มิลลิลิตร กับสารละลาย c : 100 มิลลิลิตร (อัตราส่วน 1:10)

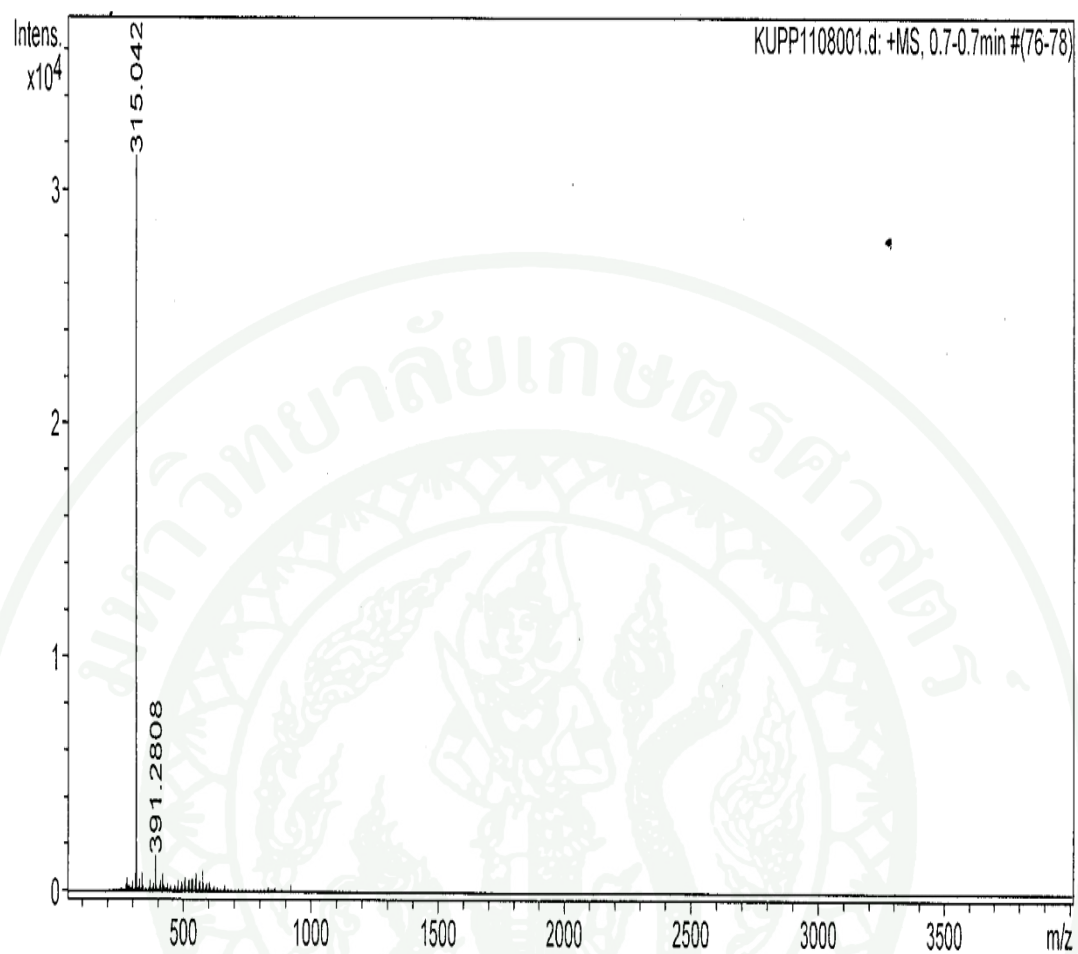
Anisaldehyde sulfuric acid reagent เป็นน้ำยาใช้ในการทดสอบสารกลุ่มน้ำตาล (sugars) สเตียรอยด์ (steroids) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) การทดสอบสารกลุ่มเทอร์พีนอยด์ ด้วยเทคนิค colour detection หลังจากพ่นด้วยสารละลาย anisaldehyde sulfuric acid reagent ที่เตรียมใหม่แล้ว นำมาอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที ถ้าเป็นสารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์จะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีม่วง สีม่วง และสีเทา (Merck, 1980)



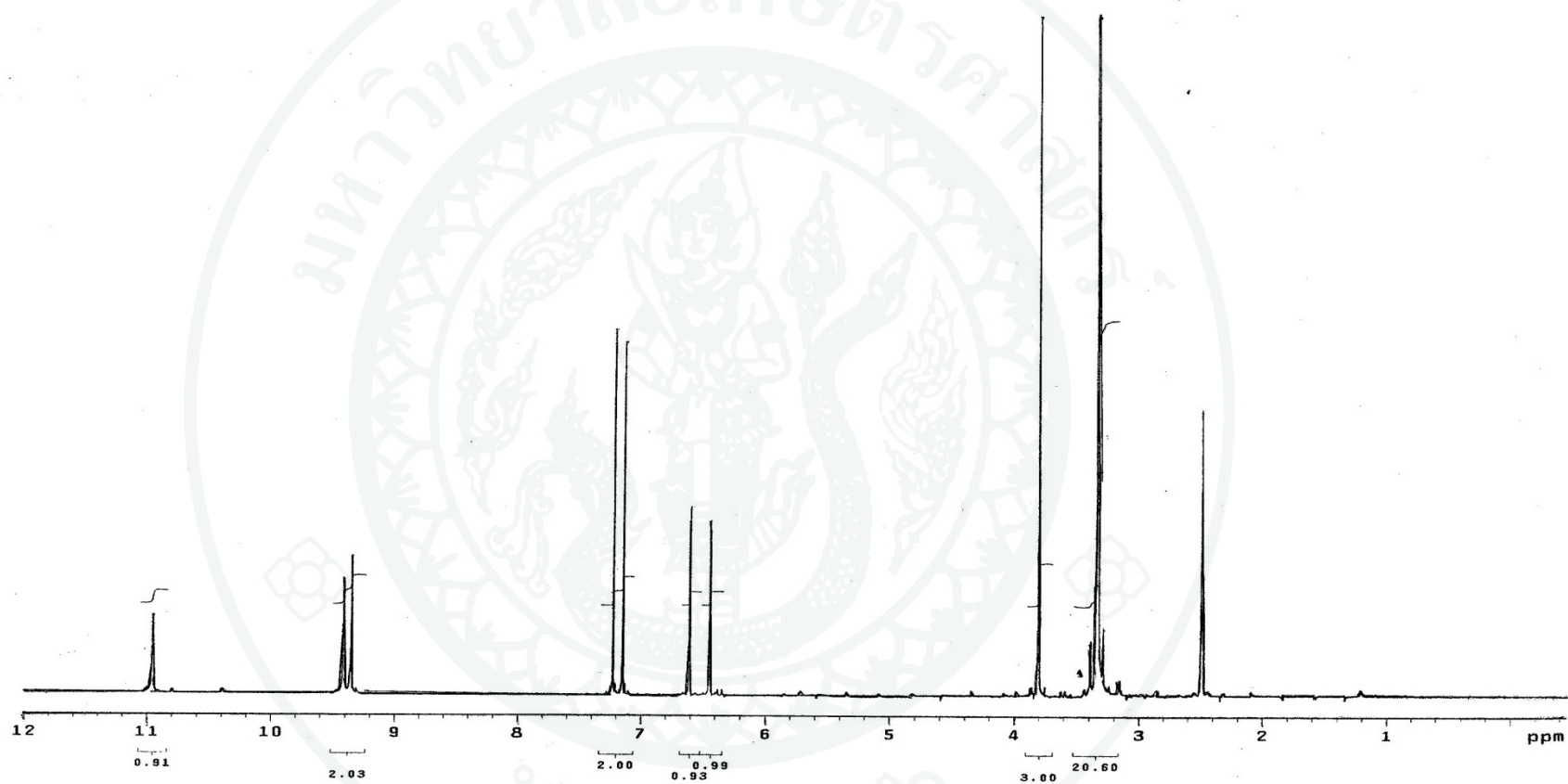
ภาพผนวกที่ 1 UV spectrum ของสาร wedelolactone



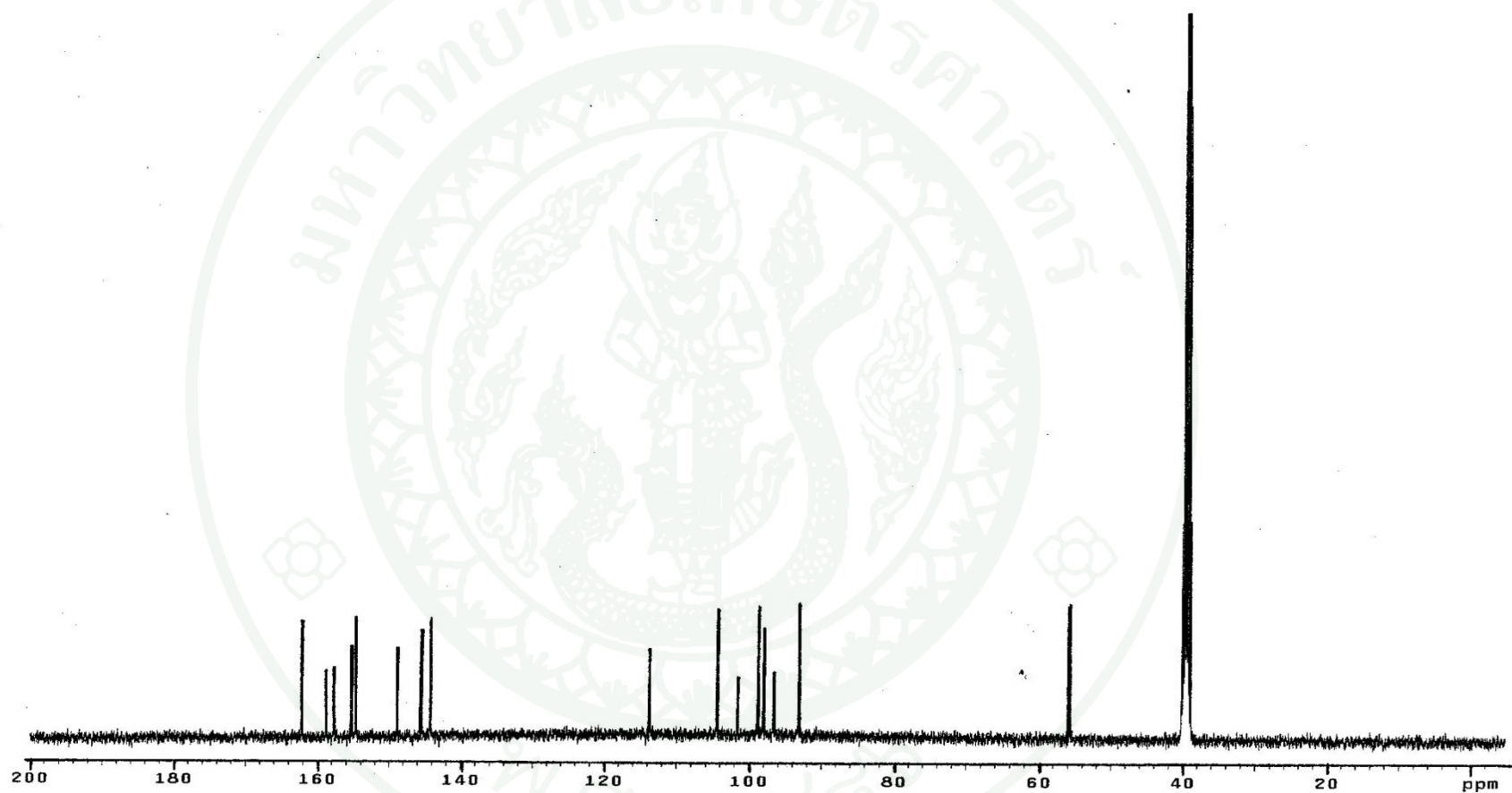
ภาพผนวกที่ 2 FT-IR spectrum ของสาร wedelolactone



ภาพผนวกที่ 3 Mass Spectrum (HRMS) ของ wedelolactone



ภาพผนวกที่ 4 Proton spectrum (^1H NMR) ของสาร wedelolactone ใน DMSO-d_6



ภาพผนวกที่ 5 Carbon spectrum (^{13}C NMR) ของสาร wedelolactone ใน DMSO-d_6

ตารางผนวกที่ 1 ค่าความมืด-ความสว่าง (L^*) ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสัคคะเม็ง

ชนิดสารสัค	ค่า L^* ^{1/}		เฉลี่ย ^{2/}
	ผมขาวธรรมชาติ	ผมฟอกสี	
ชุดควบคุม	64.388 a	64.098 a	64.243 A
สารสัคคหยาบ	54.617 d	56.515 cd	55.566 C
สารสัคคจาก CH_2Cl_2	62.900 ab	58.150 cd	60.525 B
สารสัคคชั้นน้ำ	58.554 cd	59.557 bc	59.055 B
Mordant + สารสัคคหยาบ	54.189 d	41.936 e	48.062 D
เฉลี่ย ^{3/}	58.929 X	56.051 Y	
CV = 4.2 %			

^{1/2/3/} = ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 2 ค่าความเป็นสีแดง-สีเขียว(a^*) ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสัคคะเม็ง

ชนิดสารสัค	ค่า a^* ^{1/}		เฉลี่ย ^{2/}
	ผมขาวธรรมชาติ	ผมฟอกสี	
ชุดควบคุม	1.226 e	6.607 b	3.916 B
สารสัคคหยาบ	1.506 e	4.277 c	2.892 C
สารสัคคจาก CH_2Cl_2	-0.536 f	4.83 c	2.147 D
สารสัคคชั้นน้ำ	1.420 e	6.061 b	3.741 B
Mordant + สารสัคคหยาบ	2.659 d	11.524 a	7.091 A
เฉลี่ย ^{3/}	1.255 Y	6.660 X	
CV = 11.8 %			

^{1/2/3/} = ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวดิ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 3 ค่าความเป็นสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b^*) ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็ง

ชนิดสารสกัด	ค่า b^* ^{1/}		เฉลี่ย ^{2/}
	ผงขาวธรรมชาติ	ผงฟอกสี	
ชุดควบคุม	7.0439 f	20.170 bc	13.607 C
สารสกัดหยาบ	10.443 de	22.044 b	16.243 B
สารสกัดจาก CH ₂ Cl ₂	12.902 d	21.826 b	17.364 AB
สารสกัดชั้นน้ำ	11.766 d	26.959 a	19.363 A
Mordant + สารสกัดหยาบ	8.590 ef	17.251 c	12.921 C
เฉลี่ย ^{3/}	10.149 Y	21.650 X	
CV = 11%			

^{1/2/3/} = ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 4 ค่าความบริสุทธิ์-สไตของสี (C^*) ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็ง

ชนิดสารสกัด	ค่า C^* ^{1/}		เฉลี่ย ^{2/}
	ผงขาวธรรมชาติ	ผงฟอกสี	
ชุดควบคุม	7.154 e	21.227 b	14.191 D
สารสกัดหยาบ	10.583 cd	22.468 b	16.525 BC
สารสกัดจาก CH ₂ Cl ₂	12.916 c	22.373 b	17.645 B
สารสกัดชั้นน้ำ	11.861 cd	27.635 a	19.748 A
Mordant + สารสกัดหยาบ	9.037 de	20.227 b	14.895 CD
เฉลี่ย ^{3/}	10.310 Y	22.891 X	
CV = 10.4%			

^{1/2/3/} = ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 5 ค่าตำแหน่งสี (h^*) ของปอยผมที่ย้อมด้วยสารสกัดกะเม็ง

ชนิดสารสกัด	ค่า h^* ^{1/}		เฉลี่ย ^{2/}
	ผมชาวธรรมชาติ	ผมฟอกสี	
ชุดควบคุม	80.160 bc	71.871 d	76.016 C
สารสกัดหยาบ	80.862 bc	78.989 bc	79.925 B
สารสกัดจาก CH ₂ Cl ₂	90.904 a	77.497 c	84.200 A
สารสกัดชั้นน้ำ	82.790 b	77.322 c	80.056 B
Mordant + สารสกัดหยาบ	73.037 d	56.220 e	64.629 D
เฉลี่ย ^{3/}	81.551 X	72.38 Y	
CV = 3.2 %			

^{1/2/3/} = ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ นางสาวพจมาน พิศเพียงจันทร์
เกิดวันที่ 13 กันยายน 2523
สถานที่เกิด เขตธนบุรี จังหวัด กรุงเทพมหานคร 10600
ประวัติการศึกษา วทบ. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งปัจจุบัน -
สถานที่ทำงานปัจจุบัน -
ผลงานดีเด่นและ/หรือรางวัลทางวิชาการ -
ทุนการศึกษาที่ได้รับ -